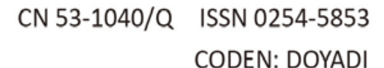




中国科技核心期刊

动物学类核心期刊


CN 53-1040/Q ISSN 0254-5853

CODEN: DOYADI



动物学研究

ZOOLOGICAL RESEARCH

第34卷 第6期 Vol.34 No.6

2013年12月

赤红山椒雌、雄鸟（*Pericrocotus flammeus*） 田穗兴，陈久桐 摄



中国科学院昆明动物研究所 中国动物学会 主办

科学出版社 出版

动物学研究（DONGWUXUE YANJIU）
第 34 卷第 6 期　　　2013 年 12 月

目　次

~~~~~~

[期刊基本参数] CN53-1040/Q * 1980 * b * A4 * 172* zh + en * P * ￥40.00 * 900 * 22* 2013-12　　http://www.zoores.ac.cn
~~~~~~

ZOOLOGICAL RESEARCH

Volume 34, Issue 6 Dec. 2013

CONTENTS

Zoological Research http://www.zoores.ac.cn/EN/volumn/current.shtml

动 物 学 研 究 2013，Dec. 34(6): 531−548 CN 53-1040/Q ISSN 0254-5853
Zoological Research DOI:10.11813/j.issn.0254-5853.2013.6.0531

珠穆朗玛峰国家级自然保护区鸟类区系及其垂直分布特征

李晶晶[1,2]，韩联宪[1]，曹宏芬[2]，田 园[2]，彭波涌[3]，王 斌[4]，胡慧建[2,*]

1. 西南林业大学，云南 昆明 650224
2. 华南濒危动物研究所暨广东省昆虫研究所，广东 广州 510260
3. 湖南省西洞庭自然保护区，湖南 汉寿 415900
4. 湖南师范大学，湖南 长沙 410081

摘要：珠穆朗玛峰国家级自然保护区拥有世界第一峰珠穆朗玛峰，地跨古北界和东洋界。但一直以来由于缺乏详细调查而未能掌握其区系特点，影响了对珠峰生物资源的深入认识。2010 年 10 月— 2012 年 10 月（126 d），采用样线法在保护区全境范围内对鸟类进行了 7 次系统实地调查，将原有记录从 227 种增加至 390 种。区系组成中，东洋界物种数多于古北界，分别为 172 和 113 种。南北坡区系差异明显，北坡以古北种为多，共 55 种，占北坡物种数的 71.4%；南坡以东洋种为多，共 168 种，占南坡物种数的 56.8%。在南坡，随海拔的升高，东洋种不断减少，而古北种先增加，在 4000 m 后开始减少；两者在海拔 3100~4000 m 时数量相当。据此认为珠峰地区东洋界和古北界的分界线在南坡，且位于海拔 3100~4000 m，而不同区系物种在垂直方向上的适应是有差异的。

关键词：鸟类区系；垂直分布；珠穆朗玛峰；喜马拉雅山脉

中图分类号：Q958.1；Q959.7 **文献标志码**：A **文章编号**：0254-5853-(2013)06-0531-18

The fauna and vertical distribution of birds in Mount Qomolangma National Nature Reserve

Jing-Jing LI[1,2], Lian-Xian HAN[1] , Hong-Fen CAO[2] , Yuan TIAN[2], Bo-Yong PENG[3] , Bin WANG[4], Hui-Jian HU[2,*]

1. *Southwest Forestry University, Kunming* 650224, *China*
2. *South China Institute of Endangered Animals & Guangdong Entomological Institute*, *Guangzhou* 510260, *China*
3. *West Dongting Lake Nature Reserve, Hanshou* 415900, *China*
4. *College of Life Sciences*, *Hunan Normal University*, *Changsha* 410081, *China*

Abstract: From October 2010 to October 2012 (total 126 days), we used the line transect method combined with interviews applied during seven individual surveys to explore the bird resources of Qomolangma National Nature Reserve (QNNR). Based on the historical records and the present results, a total of 390 bird species belonging to 62 families and 18 orders, had been confirmed. Our results indicated that QNNR plays a vital and unique role in bird species preservation and scientific study, especially for endemic and endangered species. Species richness of both the Palearctic and Oriental realms were different, there was no overall significant difference (164 and 178, respectively). Species differences between the northern and southern slope of QNNR were especially remarkable. The northern slope was characterized with enriched endemic plateau species over small total number of bird species the southern flank held an abundance of bird species with complex composition. Moreover, on the southern slope, the peak of breeding birds richness occurred at 2,500~3,100 m a.s.l., supporting the mid-domain effect hypothesis. Meanwhile, as elevation increased, the richness of Oriental species decreased while that of Palearctic species increased. The percentages of Oriental and Palearctic species were similar at 3,100~4,000 m a.s.l.. Accordingly, we estimated that the boundary of Oriental realm and Palearctic realm was at 3,100~4,000 m a.s.l., and the species invasion from Palearctic to Oriental realm was more obvious. Perhaps most significantly, the specific distribution species along the vertical gradients also indicated their corresponding adaptation strategies.

收稿日期：2013-04-08；接受日期：2013-09-18
基金项目：2008 年林业国家级自然保护区能力建设项目 (财农[2008] 297 号); 2009 年林业国家级自然保护区补助资金项目(财农[2009] 344 号)
*通信作者 (Corresponding author)，13922339577@139.com
第一作者简介：李晶晶 (1987−), 女, 硕士研究生, 主要从事野生动物生态与保护研究

Keywords: Avian Fauna; Vertical distribution; Mount Qomolangma; Himalayas

西藏珠穆朗玛峰国家级自然保护区（以下简称“保护区”）拥有包括世界第一高峰——珠穆朗玛峰（以下简称“珠峰”）在内的五座海拔 8000 m 以上的高峰，对于全球气候、生态以及生物演化和保护具重要意义，是全球 34 个生物多样性热点地区之一（Tibetan Scientific expedition of Chinese Academy of Sciences, 1974; http://www. conservation. org.cn /Explore/Pages/Hotspots.Asp)。然而，由于特殊的地理区位和环境条件，外界对珠峰鸟类资源一直缺乏系统认识。解放前，涉及珠峰鸟类的文献主要散见于外国学者对西藏南部地区的调查报道（Bailey, 1914, 1915; Battye, 1935; Hingston, 1927; Kinnear, 1922, 1938, 1940; Lavkumar, 1955; Ludlow, 1927, 1928, 1944, 1951; Maclaren, 1947; Vaurie, 1972)。解放后，中国科学院于 1959—1977 年共组织了 13 次西藏动物考察并出版专著，对珠峰地区的鸟类有所涉及（The Comprehensive Scientific Expedition to Qinghai-Xizang Plateau, Academia Sinica, 1983）。Tibetan Scientific Expedition of Chinese Academy of Sciences（1974）在对喜马拉雅山脉的调查中，报道了珠峰地区鸟类 140 种，认为珠峰南坡上部为古北界和东洋界的过渡地带。Wang（1982）探讨了喜马拉雅山脉鸟类的区系及南坡垂直分布，所涉范围包含珠峰地区，指出喜马拉雅山脉南坡 4 种典型生境所具有的鸟类，并将珠峰地区分别划入古北界青藏区青海藏南亚区藏南山地小区和东洋界西南区西南山地亚区墨脱−吉隆小区。The Comprehensive Scientific Expedition to Qinghai-Xizang Plateau, Academia Sinica（1983）采纳了该划分方法。1987—1990 年西藏开展了珍稀野生动物考察，Liu & Yin（1993）在报道中提及部分珍稀鸟类在珠峰地区有所分布。保护区于 1988—1992 年组织了科学考察，认为保护区内有 227 种鸟类，但其结果未正式报道。自 2010 年开始，华南濒危动物研究所正式在保护区开展全区域科学考察，Wang（2013）报道了 2010—2011 年的成果，共报道鸟类 342 种，并分析了鸟类群落的组成特点，推测古北界和东洋界的分界线大致为 3500~4 000 m。Li et al（2012）报道了在吉隆沟发现的我国鸟类新记录棕额啄木鸟（*Dendrocopos auriceps*）。

近十年来，由于对垂直分布的研究，人们对多样性格局的认识有了基本的转变 (Christy and Mccain，2005)。现今生物多样性的垂直分布格局形成机制仍存在较大的争议，并不是单个因素就可以决定某地区的物种垂直分布格局（Wu & Lei，2013）。但未见有不同区系物种垂直分布格局的研究，而珠峰是东洋界和古北界分界所在地，是研究的理想场所。为了加强外界对此区域鸟类区系的认识，我们自2010年以来对珠峰保护区鸟类进行了系统调查，探讨鸟类区系及其垂直分布，以期为保护区管理、全球变化及生物演化提供基础资料。

1 材料与方法

1.1 研究地概况

保护区成立于 1989 年，1994 年晋升为国家级自然保护区，2004 年加入世界生物圈保护区网络，是以保护极高山生态系统、高原自然景观、地史遗迹及藏族历史文化遗产为主的综合性保护区（Cidanlunzhu, 1997；Li, 2001）。保护区（N27°48′~29°19′，E84°28′~88°23′）位于我国青藏高原南部、喜马拉雅山脉中段，西藏自治区与尼泊尔联邦民主共和国交界处，包括定日、吉隆、聂拉木和定结 4 个县级行政单元，总面积~3.4×10^4 km^2（Ma et al, 2010）。其范围南起国境线，北至雅鲁藏布江及藏南分水岭，东至明玖浦与雅拉浦分水岭，西抵巴若藏布、阿母嘎曲与桑卓曲分水岭（Li, 1993; Zhang et al, 2006）（图 1）。保护区内的珠穆朗玛峰、洛子峰、马卡鲁峰、卓奥友峰及希夏邦马峰五座海拔 8 000 m 以上的高峰，构成了世界最高山脉的最高地段，其中，喜马拉雅山脉对暖湿气流的地形屏障作用造成了保护区南、北翼气候的明显差异。

保护区具有藏南高原和中喜马拉雅山地两大自然地理单元的地域特征，植被类型兼具东、中、西喜马拉雅山脉植被特点。保护区生态系统和植被类型丰富，垂直分异特征明显。植被分布垂直海拔范围为 1600~6000 m/6200 m。喜马拉雅南翼植被垂直带从谷底到山顶依次为：山地常绿阔叶林（1400~2500 m)、山地针阔混交林带

（2500~3 100 m）、山地针叶林带（3 100~4000 m）、山地灌丛草甸带（4000~4800 m）、高山寒冻草甸垫状植被及冰碛地衣带（4800~5500 m），海拔≥5500 m 是高山冰雪带。北翼则由高原草原带（4 000~5 000 m）和高山草甸带（5000~6000 m）组成，海拔≥6000 m 是高山冰雪带(The Comprehensive Scientific Expedition to Qinghai-Xizang Plateau, Academia Sinica, 1983; Zhang et al, 2006)。

1.2　研究方法

1.2.1　调查日期

于 2010 年 10 月—2012 年 10 月共进行 7 次调查（126 d）。具体日期如下：2010 年 10 月 9 日—10 月 26 日（18 d）、4 月 27 日—5 月 17 日（21 d）；2011 年 5 月 6 日—5 月 13 日（9 d）、2011 年 8 月 6 日—8 月 10 日（5 d）、2012 年 5 月 17 日—6 月 8 日（21 d）、2012 年 7 月 31 日—8 月 29 日（30 d）及 2012 年 9 月 22 日—10 月 13 日（22 d）。

1.2.2　调查地区

调查范围涵盖保护区全境，具体调查点见图 1。北坡调查区域海拔范围为 4000~6000 m，南坡沟谷调查区域海拔范围为 1800~5500 m。

1.2.3　调查方法

本调查主要采用样线法。调查时以双筒望远镜（Bushnell 8×42）及单筒望远镜（Bushnell ELITE 20×，60×80 mm，78-8045）观察为主，辅以鸣声辨别及摄影取证等手段。调查区域以海拔高度作为样线布设的标线，尽可能涵盖非冰雪带中所有生境类型。共设有样线 66 条，覆盖面积 234.68 km^2，占保护区总面积的 6.9‰。南坡以步行方式进行调查，在 1800~5500 m 海拔范围内共设样线 49 条，总长度为 152.8 km，调查次数为 1~3 次，样线长度为 2.5~5.0 km，单侧宽度为 50 m，速度为 1~2 km/h。由于北坡地形开阔、面积大而物种少，为增大调查强度，以行车和步行两种方式进行，在 4000~6000 m 海拔范围内，共设样线 17 条，总长度为 283.1 km，调查次数为 1~2 次。其中，行车方式样线共 13 条，样线长度为 10~20 km，单侧宽度为 100 m，速度为 10~20 km/h，间隔 500 m 停留 5 min。步行方式样线共 3 条，样线长度为 3 km，单侧宽度 100 m，速度为 1~2 km/h。每天调查时间为 7:00—11:00 和 15:00—18:00，具体调查时间根据当地日出、日落时间及天气状况略作调整。采用 HOULX M-241A GPS 记录样线轨迹、海拔及鸟类发现地位置。

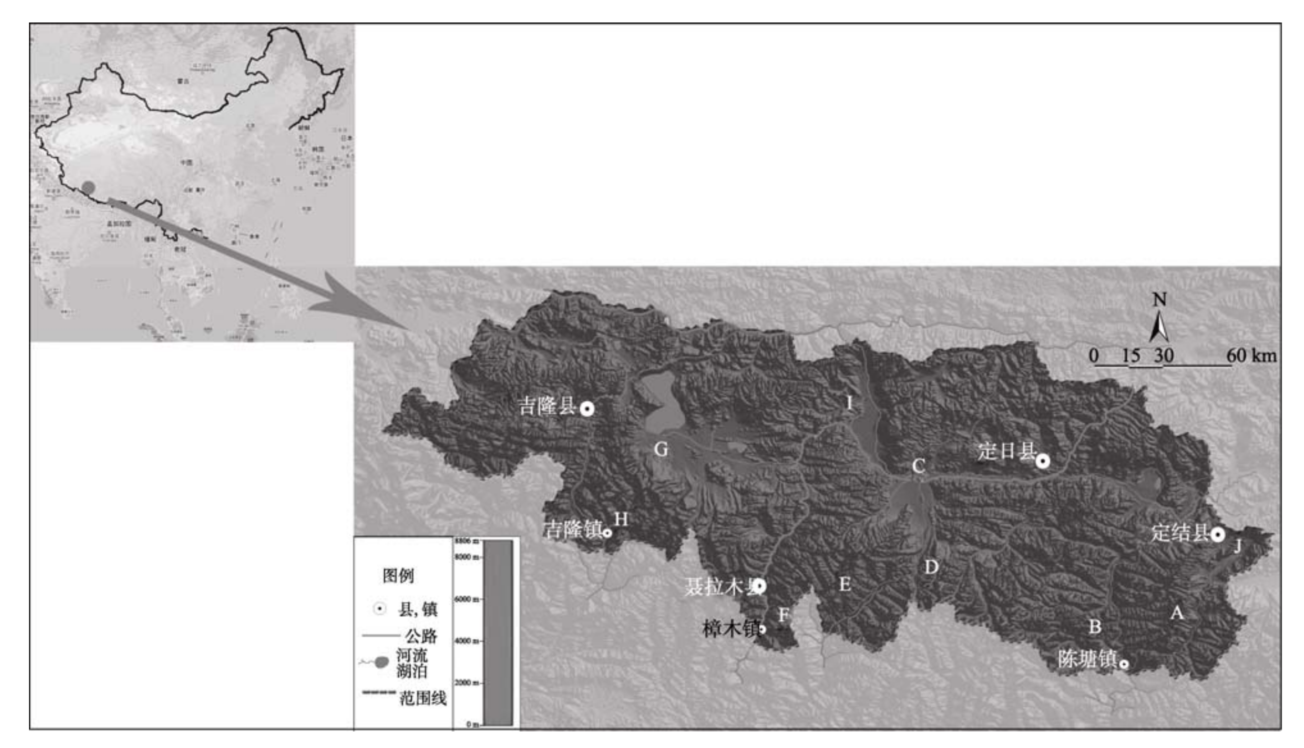


图 1　调查点位置示意图

Figure 1　Survey Site Locations

A：日屋；B：陈塘沟；C：岗嘎；D：卓奥友峰；E：绒辖沟；F：樟木沟；G：色龙；H：吉隆沟；I：琐作；J：定结。

A: Riwu; B: Chentang; C: Gangga; D: Mt. Cho Oyo; E: Rongxia; F: Zhangmu; G: Selong; H: Jilong; I: Suozuo; J: Dingjie.

1.2.4 区系分析

按照《中国鸟类分布名录》（Zheng, 1976）中的划分鸟类区系成分方法及东洋界物种、古北界物种和广布种的分类，以繁殖鸟（留鸟和夏候鸟）数据进行区系成分分析，区系成分参照《中国动物地理》（Zhang, 2011）。

1.2.5 垂直变化

本研究南翼调查区域海拔带划分与植被垂直带一致，即 1 600~2 500 m、2 500~3 100 m、3100~4 000 m、4000~4 800 m 及 4 800~5 500 m (The Comprehensive Scientific Expedition to Qinghai-Xizang Plateau, Academia Sinica, 1983)。物种海拔分布范围以实际发现地的最低和最高海拔为主，辅以访问调查，并参考《珠穆朗玛峰地区科学考察报告——生物与高山地理》（Tibetan Scientific Expedition of Chinese Academy of Sciences, 1974）、《西藏鸟类志》（The Comprehensive Scientific Expedition to Qing hai-Xizang Plateau, Academia Sinica, 1983）和《中国鸟类野外手册》（John et al, 2000）。

冬候鸟和旅鸟的年度及空间变化较大，而繁殖鸟的分布较稳定，故选取繁殖鸟为垂直分布的研究对象。

1.2.6 物种鉴定与分类

物种鉴定主要参考《Birds of Nepal》（Richard et al , 2000）、《Raptors of the World》（James & David, 2006）和《中国鸟类野外手册》（John et al, 2000），分类系统及中国特有种主要参考《中国鸟类分类与分布名录》（第二版）（Zheng, 2011）。青藏高原特有种参考《西藏鸟类志》，喜马拉雅山脉特有种参考 Wang（1984）。国家重点保护等级参考 1988 年国务院批准的国家重点保护动物名录，CITES 附录以 CITES 官方网站（http://www.forestry.gov.cn）Version 2010.6 为准，IUCN 濒危等级以 IUCN 官方网站（http://www.iucnredlist.org）Version 2012.2 为准。

2 结 果

2.1 物种组成特点及南、北坡差异

野外共记录鸟类 18 目 54 科 281 种，结合历史文献资料共计 18 目 62 科 390 种，占西藏自治区已知鸟类种数（473）的 82.5%。其中，繁殖鸟共 13 目 50 科 326 种，留鸟和夏候鸟占主导地位，分别为 232 和 97 种；旅鸟次之，为 60 种；冬候鸟最少，为 24 种。部分鸟类兼具两种居留型（见附录）。

保护区北坡分布有鸟类 13 目 31 科 115 种，南坡 14 目 54 科 326 种，后者物种数明显高于前者。北坡留鸟、夏候鸟及旅鸟基本相当，分别为 42、36 及 40 种，冬候鸟 13 种。南坡留鸟最多，达 222 种，夏候鸟 77 种，旅鸟 25 种，冬候鸟 12 种。北坡以雁形目和鸻形目物种居多，而南坡物种组成复杂，多雀形目鸟类（占总数的 60%以上）。

2.2 区系

在 326 种繁殖鸟中，东洋界物种数最多（172 种），古北界物种数次之（113 种），广布种最少（41 种），且其在繁殖鸟中所占的比例分别为 52.7%、34.7%及 12.6%（表 1）。

保护区南、北坡繁殖鸟的古北界及东洋界物种数比例差异明显。古北界物种在北坡占优势（55 种），为北坡物种数的 71.4%。东洋界物种在南坡占优势（168 种），为南坡物种数的 56.8%（表 1）。

2.3 垂直变化

2.3.1 区 系

东洋种、古北种和广布种的垂直分布模式差异明显。随着海拔的升高，东洋种种数持续下降，至 4800~5500 m 已无东洋种分布。古北种物种数分布曲线呈“钟形”，广布种曲线平缓，且两者物种数均于 3100~4000 m 达到最大值。东洋种和古北种种数于 3100~4000 m 基本持平，分别为 69 和 67 种(图 2)。由各区系成分比例可见，随着海拔的升高，东洋种所占比例持续下降；古北种比例持续上

表 1 繁殖鸟区系特点（物种数及比例，%）

Table 1 Faunal characteristics（species and ratio, %）of breeding birds

区系 Fauna	古北界 Palearctic realm		东洋界 Oriental realm		广布种 Cosmopolite species		合计 Total 种 Species
北坡 Northern slope	55	71.43	6	7.79	16	20.78	77
南坡 Southern slope	93	31.42	168	56.76	35	11.82	296
保护区 QNNR	113	34.66	172	52.76	41	12.58	326

升，于 4800~5500 m 达到最高值（83.3%）；广布种比例最大值见于 4000~4800 m（图 3）。

2.3.2 物种丰富度

随着海拔的上升，繁殖鸟物种数于2500~3100 m达到最大值185种（留鸟和夏候鸟分别为133和51种），于4 800~5 500 m 达到最小值24种（留鸟和夏候鸟分别为20和4种）（图4）。

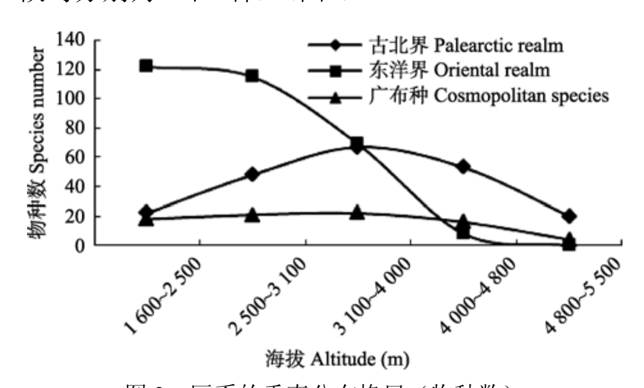


图 2　区系的垂直分布格局（物种数）
Figure 2　Vertical distribution patterns of avian fauna (species number)

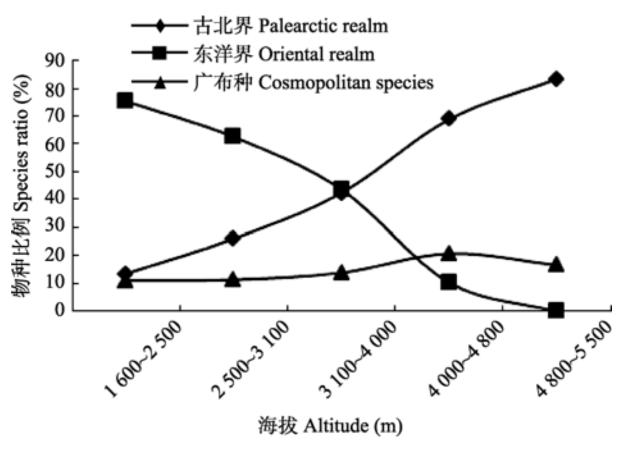


图 3　区系的垂直分布格局（物种比例）
Figure 3　Vertical distribution patterns of avian fauna(species ratio)

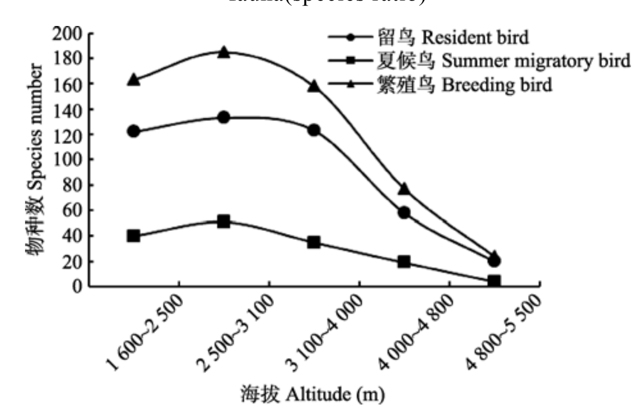


图 4　繁殖鸟垂直分布
Figure 4　Vertical distributions of breeding birds

3 讨　论

3.1　物种组成特点

本调查于保护区内共记录鸟类 390 种，占西藏自治区（473 种）鸟类物种数的 82.45%（The Comprehensive Scientific Expedition to Qinghai-Xizang Plateau, Academia Sinica, 1983），说明该保护区是西藏鸟类最丰富的地区之一。较之于 Tibetan Scientific Expedition of Chinese Academy of Sciences（1974）的调查结果，共增加 250 种，主要集中于雀形目（鹟科、画眉科、莺科）、雁形目（鸭科）、隼形目（鹰科）、鸻形目（鸻科、鹬科）及鴷形目（啄木鸟科），占总数的 83.7%。较之于 Wang et al (2013)的结果共增加 11 目 24 科 48 种，以雀形目（鹟科、莺科和燕雀科）、鸻形目（鸻科、鹬科）及隼形目（鹰）为主，占总数的 77.0%。其中，包括我国鸟类新纪录棕额啄木鸟 (Li et al, 2012)。新增物种分布地与保护区物种丰富的高原湖泊和南坡沟谷地区保持一致。

保护区内留鸟和夏候鸟占主导地位，说明其鸟类地域性特点明显。《中国动物地理》（Zhang, 2011）大概描述了我国 3 条主要鸟类迁徙通道，其中对西部通道的描述不是十分明确。我们研究发现保护区内有旅鸟 60 种，据此我们推测珠峰地区甚至更广阔的喜马拉雅山脉南部沟谷均为我国西部鸟类迁徙通道。

南、北坡物种对比结果显示，保护区南坡物种远比北坡丰富，且珍稀、保护物种也较多，与 Wang（1982）对喜马拉雅山脉南、北坡鸟类差异的报道一致。南、北坡物种的差异可能与南、北坡生境及气候的巨大差异有关，北坡垂直差异较小、生境简单和严酷的气候条件可能是造成北坡物种相对贫乏的因素。

3.2　区　系

保护区东洋界物种数多于古北界，而东洋界物种又主要分布于南坡，说明南坡在保护区中占有着十分重要的地位。南、北坡的物种组成和区系存在明显差异，北坡古北界物种占绝对优势，显示北坡属于古北界范围。

根据 Wang（1982）对喜马拉雅地区区划的归属，珠峰地区可划入古北界青藏区青海藏南亚区藏南山地小区和东洋界西南区西南山地亚区墨脱−吉隆小区。The Comprehensive Scientific Expedition to

Qinghai-Xizang Plateau, Academia Sinica (1983)与其保持一致。Zhang（2011）对西藏地区区划的归属，珠峰地区可划入古北界青藏区青海藏南亚区和东洋界西南区喜马拉雅亚区。本研究发现珠峰地区鸟类具有突出的地域性特点，符合 Zhang（2011）对该区动物地理的划分。

3.3 垂直分布格局

在南坡随着海拔的上升，古北种和东洋种所占比例表现明显变化，海拔 3100 m 以下东洋种占优势，4000 m 以上古北种占优势，而 3100~4000 m 之间古北与东洋种数基本相当，分别为 42.4%及 43.7%（图 3）。据此，我们认为南坡 3100~4000 m 是古北界和东洋界的分界线所在位置，基本支持珠峰南坡上部为古北界和东洋界的过渡地带（Tibetan Scientific Expedition of Chinese Academy of Sciences, 1974），两者分界线位于海拔 3500~4000 m 的推测 (Wang et al, 2013)。

再者，东洋界和古北界在海拔梯度变化显示出不同的模式，东洋界呈递减式下降，而古北界则符合中域理论模式，表明不同起源的物种在海拔梯度上的适应是不同的，这受进化历史和环境适应的影响。

最后，海拔 3100 m 以下古北界物种比例大于 4000 m 以上的东洋界物种比例，说明古北界物种向东洋界的渗透优于东洋界物种向古北界的渗透，同时，也反映出高海拔分布物种对低海拔的适应优于低海拔分布物种对高海拔的适应。

致谢：本研究得到西藏林业厅野生动物保护处宗嘎处长帮助。西藏珠穆朗玛峰国家级自然保护区管理局对野外工作给予了大力支持，研究得到总局前局长嘎玛、局长曹天堂、副局长普琼、科长拉巴次仁及聂拉木县林业局局长亚军、定日管理分局局长米仓、吉隆管理分局前局长次日桑多、局长达琼、丹增曲珍等人的帮助。猛禽识别得到上海市野生动植物保护管理站薄顺奇的指导。邢晓莹、丁志锋、于冬梅对文章后续修改给予一些修改建议。在此，一并表示感谢！

参考文献：

Bailey FM. 1914. Exploration on the Tsangpo or upper Brahmaputra. *The Geographical Journal,* **44**: 341-364.

Bailey FM. 1915. Notes from southern Tibet. *Journal of the Bombay Natural History Society,* **24**: 72-78.

Battye RKM. 1935. Notes on some birds observed between Yatung and Gyantse, Tibet. *Journal of the Bombay Natural History Society,* **38**(3): 406-408.

Christy MC. 2009. Global analysis of bird elevational diversity. *Global Ecology and Biogeography,* **18**(3): 346-360.

Cidanlunzhu. 1997. The summary of Mount Qomolangma Nature Reserve. *China Tibetology,* (1): 3-22. [次旦伦珠. 1997. 珠穆朗玛峰自然保护区概况. 中国藏学, (1): 3-22.]

Colwell RK, Hurtt GC. 1994. Nonbiological gradients in species richness and a spurious Rapoport effect. *The American Naturalist,* **144**(4): 570-595.

Colwell RK, Lees DC. 2000. The mid-domain effect: geometric constraints on the geography of species richness. *Trends in Ecology and Evolution,* **15**(2): 70-76.

Hingston RWG. 1927. Bird notes from the Mount Everest Expedition of 1924. *The Journal of Bombay Natural History Socety,* **32**(2): 320-329.

James FL, David AC. 2006. Raptors of the World. Princeton and Oxford: Princeton University Press, 1-320.

Jetz W, Rahbek C. 2001. Geometric constraints explain much of the species richness pattern in African birds. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **98**(10): 5661-5666.

John MK, Karen P, He FQ. 2000. A Field Guide to the Birds of China . Changsha: Hunan Press, 1-571. [约翰·马敬能, 卡伦·菲利普斯, 何芬奇. 2000. 中国鸟类野外手册. 湖南教育出版社, 1-571.]

Kinnear NB. 1922. On the birds collected by Mr. A. F. R. Wollaston during the first Mt. Everest expedition. *Ibis,* **64**(3): 495-526.

Kinnear NB. 1938. A new babbler from S. E. Tibet. *Bulletin of the British Ornthologists Club,* **58**: 67-77.

Kinnear NB. 1940. New races of rosefinch, suthora and nuthatch collected by Messrs, Ludlow and Sherift in southeast Tibet. *Bulletin of the British Ornthologists Club,* **60**: 56-57.

Lavkumar KS. 1955. Another bird watching pilgrimage to southwestern Tibet. *Journal of the Bombay Natural History Society,* **52**(4): 925-931.

Li BS. 1993. A preliminary evaluation of the Mount Qomolangma Nature Reserve. *Journal of Natural Resources,* **8**(2): 97-104. [李渤生. 1993. 珠穆朗玛峰保护区的初步评价. 自然资源学报, **8**(2): 97-104.]

Li BS. 2001. A miracle Snow-Capped world-Mount Qomolangma Nature Reserve. *Man and the Biosphere,* (2): 4-11. [李渤生. 2001. 雪域奇葩—珠穆朗玛峰自然保护区. 人与生物圈, (2): 4-11.]

Li JJ, Cao HF, Jin K, Han LX, Hu HJ. 2012. A new record in Picidae of China: the brown-fronted woodpecker. *Chinese Birds,* **3**(3): 240-241.

Liu WL, Yin BG. 1993. Rare wildlife and Protection, Tibet. Beijing: China Forestry Publishing House, 1-218. [刘务林, 尹秉高. 1993. 西藏珍稀野生动物与保护. 北京: 中国林业出版社, 1-218.]

Ludlow F. 1927. Birds of the Gyantse neighbourhood southern Tibet. *Ibis,*

69(3): 644-659.

Ludlow F. 1928. Birds of the Gyantse neighbourhood, southern Tibet-Pan II. *Ibis,* **69**(4): 51-73, 211-232.

Ludlow F. 1944. The birds of southeastern Tibet. *Ibis,* **86**(3): 348-389.

Ludlow F. 1951. The birds of Kongbo and Pome, Southeast Tibet. *Ibis,* **93**(4): 547-578.

Maclaren PIR. 1947. Notes of the birds of the Gyantse road, southern Tibet, May 1946. *Journal of Bombay Natural History Society,* **47**(2): 301-308.

Ma F, Li JJ, Peng PH, Gao ZY, Han AK. 2010. Vegetation changes on southern and northern slopes of the Mt. Qomolangma National Nature Reserve. *Progress in Geograghy,* **29**(11): 1427-1432. [马飞，李景吉，彭培好，高志勇，阚瑷珂. 2010. 珠穆朗玛峰国家自然保护区南北坡植被覆盖变化. 地理科学进展, **29**(11): 1427-1432.]

Richard Grimmett, Carol Inskipp, Tim Inskipp. 2000. Birds of Nepal. Princeton: Princeton University Press, 1-288.

The Comprehensive scientific expedition to Qinghai-Xizang plateau, Academia Sinica. 1983. The avifauna of Xizang. Beijing: Science Press, 1-348. [中国科学院青藏高原综合考察队. 1983. 西藏鸟类志. 北京：科学出版社, 1-348.]

Tibetan Scientific expedition of Chinese Academy of Sciences. 1974. The report of the scientific investigation to Mt. Qomolangma region, 1966-1968, Biology and alpine physiology. Beijing: Science Press, 1-502. [中国科学院西藏科学考察队. 1974. 珠穆朗玛峰地区科学考察报告，1966-1968，生物与高山生理. 北京：科学出版社, 1-74.]

Vaurie C. 1972. Tibet and Its Birds. London: H. F. G. Witherby Limited, 1-407.

Wang B, Peng BY, Li JJ, Pu Q, Hu HJ, Ma JZ. 2013. Community structure and diversity of birds in Mt. Qomolangma National Nature Reserve, Tibet. *Chinese Journal of Zoology,* **33**(10): 3056-3064 [王斌，彭波涌，李晶晶，普穷，胡慧建，马建章. 2013. 珠穆郎玛峰国家级自然保护区鸟类群落结构与多样性. 动物学杂志, **33**(10): 3056-3064.]

Wang ZX. 1982. On the vertical distribution of birds in Himalayan region. *Zoological Research,* **3**(S2): 251-293. [王祖祥. 1982. 喜马拉雅地区鸟类区系及其垂直分布. 动物学研究, **3**(S2): 251-293.]

Wu YJ, Lei FM. 2013. Species richness patterns and mechanisms along elevational gradients. *Chinese Journal of Zoology*, 48(5): 797-807. [吴运杰，雷富鸣. 2013. 物种丰富度垂直分布格局及影响机制. 动物学杂志, 48(5): 797-807.]

Zhang FY, Yang RL. 1997. The bird migration study of China. Beijing: China Forestry Publishing House, 1-364. [张孚允，杨若莉. 1997. 中国鸟类迁徙研究. 北京：中国林业出版社, 1-364.]

Zhang RZ. 2011. Chinese Zoogeograph. Beijing: Science Press, 1-330. [张荣祖. 2011. 中国动物地理. 北京：科学出版社, 1-330.]

Zhang W, Zhang YL, Wang ZF, Ding MJ, Yang XC, Lin XD, Yan YP. 2006. Analysis of vegetatioan change in Mt. Qomolangma Nature Reserve. *Progress in Geography,* **25**(3): 12-22. [张玮，张镱锂，王兆锋，丁明军，杨续超，蔺学东，阎宇平. 2006. 珠穆朗玛峰自然保护区植被变化分析. 地理科学进展, **25**(3): 12-22.]

Zheng GM. 2011. A Checklist on the Classification and Distribution of the Birds of China. 2nd ed. Beijing: Science Press, 1-404. [郑光美. 2011. 中国鸟类分类与分布名录. 2 版. 北京：科学出版社, 1-404.]

Zheng ZX. A Checklist on the Distribution of the Birds of China. Beijing: Science Press, 1-1218. [郑作新. 1976. 中国鸟类分布名录. 北京：科学出版社, 1-1218.]

附录 I： 珠穆朗玛峰国家级自然保护区鸟类名录
Appendix I: Birds list in Mount Qomolangma National Nature Reserve

目名 Order/科名 Family/ 中文名 拉丁名 Chinese & Scientific name	区系 Fauna	居留型 Settlement type	特有性，国家保护级别, CITES, IUCN national endemism, National protection grade, CITES appendix, IUCN Red List	南坡海拔范围 Altitude range in southern slope	数据来源 Data surce
I 鸊鷉目 **PODICIPEDIFORMES**					
（一）鸊鷉科 **Podicipedidae**					
1.小鸊鷉 *Tachybaptus ruficollis* #	C	R	3, LC		S
2.凤头鸊鷉 *Podiceps cristatus* #	C	S, W	3, LC		S
II 鹈形目 **PELECANIFORMES**					
（二）鸬鹚科 **Phalacrocoracidae**					
3.普通鸬鹚 *Phalacrocorax carbo* #	C	S, P	3, LC		H
III 鹳形目 **CICONIIFORMES**					
（三）鹭科 **Ardeidae**					
4.苍鹭 *Ardea cinerea* #	P	S	3, LC		S
5.大白鹭 *Egretta alba* *	O	P	3		H
6.牛背鹭 *Bubulcus ibis* *	O	S	3, LC		H
IV 雁形目 **ANSERIFORMES**					
（四）鸭科 **Anatidae**					
7.斑头雁 *Anser indicus* #	P	S, P	3, LC		S

续表

目名 Order/科名 Family/ 中文名 拉丁名 Chinese & Scientific name	区系 Fauna	居留型 Settlement type	特有性，国家保护级别, CITES, IUCN national endemism, National protection grade, CITES appendix, IUCN Red List	南坡海拔范围 Altitude range in southern slope	数据来源 Data source
8.赤麻鸭 *Tadorna ferruginea* #	P	S, R	3, LC		S
9.翘鼻麻鸭 *Tadorna tadorna* #	P	S	3, LC		H
10.赤颈鸭 *Anas Penelope* #	P	W	3, LC		S
11.赤膀鸭 *Anas strepera* #	P	W, P	3, LC		S
12.绿翅鸭 *Anas crecca* #	P	W	3, LC		S
13.绿头鸭 *Anas platyrhynchos* #	P	S	3, LC		S
14.针尾鸭 *Anas acuta* #	P	W, P	3, LC		S
15.赤嘴潜鸭 *Netta rufina* #	P	P	3, LC		S
16.白眼潜鸭 *Aythya nyroca* #	P	S, P	3, NT		S
17.凤头潜鸭 *Aythya fuligula* #	P	P	3, LC		S
18.普通秋沙鸭 *Mergus merganser* #	P	W	3, LC		S
V 隼形目 FALCONIFORMES					
（五）鹗科 **Pandionidae**					
19.鹗# *Pandion haliaetus*	P	R	2, II, LC		S
（六）鹰科 **Accipitridae**					
20.凤头蜂鹰 *Pernis ptilorhyncus* *	C	P	2, II, LC	2,3	S
21.黑鸢 *Milvus lineatus* *	C	R	2, II	3	S
22.玉带海雕 *Haliaeetus leucoryphus* #	P	S	1, II, VU		H
23.白尾海雕 *Haliaeetus albicilla* #	P	W, P	1, I, LC		H
24.胡兀鹫 *Gypaetus barbatus* #*	P	R	1, II, LC	2,3,4,5	S
25.高山兀鹫 *Gyps himalayensis* # *	P	R	2, II, LC	2,3,4	S
26.秃鹫 *Aegypius monachus* #*	P	R	2, II, NT	3	H
27.兀鹫 *Gyps fulvus* *	O	R	2, II, NT	4	S
28.蛇雕 *Spilornis cheela* *	O	R	2, II, LC	2	S
29.白尾鹞 *Circus cyaneus* *	P	W	2, II, LC	2,3,4	S
30.凤头鹰 *Accipiter trivirgatus* *	C	R	2, II, LC	1	S
31.褐耳鹰 *Accipiter badius* *	O	R	2, II, LC	2	S
32.松雀鹰 *Accipiter virgatus* *	O	R	2, II, LC	1	S
33.雀鹰 *Accipiter nisus* *	P	R	2, II, LC	3	S
34.苍鹰 *Accipiter gentilis* *	P	W, P	2, II, LC	3	S
35.白眼鵟鹰 *Butastur teesa* *	O	R	2, II, LC		H
36.普通鵟 *Buteo buteo* # *	P	R, P	2, II, LC	2,3	S
37.大鵟 *Buteo hemilasius* # *	P	S	2, II, LC	2,3,4	S
38.林雕 *Ictinaetus malayensis* *	O	R	2, II, LC	2	S
39.乌雕 *Aquila clanga* *	P	P	2, II, VU	3	S
40.草原雕 *Aquila nipalensis* # *	P	W, P	2, II, LC	2	S
41.金雕 *Aquila chrysaetos* *	P	R	1, II, LC	1,2,3	S
42.靴隼雕 *Aquila nipalensis* *	P	R	2, II	1,2	S
43.鹰雕 *Spizaetus nipalensis* *	O	R	2, II	1	S

续表

目名 Order/科名 Family/ 中文名 拉丁名 Chinese & Scientific name	区系 Fauna	居留型 Settlement type	特有性，国家保护级别, CITES, IUCN national endemism, National protection grade, CITES appendix, IUCN Red List	南坡海拔范围 Altitude range in southern slope	数据来源 Data source
44.凤头鹰雕 *Spizaetus cirrhatus* *	O	R	2, II	1	H
（七）隼科 **Falconidae**					
45.红隼 *Falco tinnunculus* # *	C	R	2, II	2,3,4,5	S
46.灰背隼 *Falco columbarius* *	P	W	2, II	2,3	H
47.燕隼 *Falco subbuteo* *	P	S	2, II	1	S
48.猎隼 *Falco cherrug* #	P	S	2, II		S
VI 鸡形目 **GALLIFORMES**					
（八）雉科 **Phasianidae**					
49.雪鹑 *Lerwa lerwa* *	P	R	2, LC	3,4	H
50.藏雪鸡 *Tetraogallus tibetanus* # *	P	R	T, 2, I, LC	3,4,5	S
51.石鸡 *Alectoris chukar* *	P	R	3	2,3	S
52.高原山鹑 *Perdix hodgsoniae* # *	P	R	3, LC	4,5	S
53.鹌鹑 *Coturnix coturnix* *	P	W	3, LC	2,3	H
54.环颈山鹧鸪 *Arborophila torqueola* *	O	R	3, LC	1	H
55.红胸山鹧鸪 *Arborophila mandellii* *	O	R	3, VU	1	H
56.血雉 *Ithaginis cruentus**	P	R	2, II, LC	3,4	S
57.红胸角雉 *Tragopan satyra* *	O	R	T, H, 1, III, NT	1,2,3	H
58.灰腹角雉 *Tragopan blythii* *	O	R	T, H, 1, I, LC	1,2,3	H
59.红腹角雉 *Tragopan temminckii* *	O	R	2, LC	1,2,3	S
60.棕尾虹雉 *Lophophorus impejanus* *	O	R	T, H, 1, I, LC	2,3	S
61.黑鹇 *Lophura leucomelanos* *	O	R	T, H, 2, LC	1,2,3	S
62.藏马鸡 *Crossoptilon harmani* *	O	R	C, 2, NT	3,4	H
63.环颈雉 *Phasianus colchicus* *	C	R	3, LC	1,2,3	H
VII 鹤形目 **GRUIFORMES**					
（九）鹤科 **Gruidae**					
64.灰鹤 *Grus grus* #	P	S, P	2, II, LC		S
65.黑颈鹤 *Grus nigricollis* #	P	W	T, 1, I, VU		S
（十）秧鸡科 **Rallidae**					
66.棕背田鸡 *Porzana bicolor* *	O	R	2	1,2,3	H
67.黑水鸡 *Gallinula chloropus* *	C	S, P	3, LC	3	S
68.白骨顶 *Fulica atra* #	C	S	3, LC		S
VIII 鸻形目 **CHARADRIIFORMES**					
（十一）彩鹬科 **Rostratulidae**					
69.彩鹬 *Rostratula benghalensis* *	O	S	3, LC	4	S
（十二）鹮嘴鹬科 **Ibidorhynchidae**					
70.鹮嘴鹬 *Ibidorhyncha struthersii* #*	P	R	3, LC	1,2,3,4	S
（十三）反嘴鹬科 **Recurvirostridae**					
71.黑翅长脚鹬 *Himantopus himantopus* *	C	P	3, LC	4	H
72.反嘴鹬 *Recurvirostra avosetta* *	P	P	3, LC	4	H

续表

目名 Order/科名 Family/ 中文名 拉丁名 Chinese & Scientific name	区系 Fauna	居留型 Settlement type	特有性，国家保护级别, CITES, IUCN national endemism, National protection grade, CITES appendix, IUCN Red List	南坡海拔范围 Altitude range in southern slope	数据来源 Data source
（十四）燕鸻科 **Glareolidae**					
73.普通燕鸻 *Glareola maldivarum* *	O	S, P	3, LC	4	H
（十五）鸻科 **Charadriidae**					
74.凤头麦鸡 *Vanellus vanellus* *	P	P	3, LC	4	H
75.金鸻 *Pluvialis fulva* #	P	P	3, LC		H
76.剑鸻 *Charadrius hiaticula* #	P	P	3, LC		H
77.长嘴剑鸻 *Charadrius placidus* #	C	P	3, LC		H
78.金眶鸻 *Charadrius dubius* #	C	S, P	3, LC		H
79.蒙古沙鸻 *Charadrius mongolus* #	C	S	3, LC		S
（十六）鹬科 **Scolopacidae**					
80.丘鹬 *Scolopax rusticola* #	P	P	3, LC		H
81.孤沙锥 *Gallinago solitaria* #	P	W, P	3, LC		H
82.林沙锥 *Gallinago nemoricola* #	O	S	3, VU		H
83.针尾沙锥 *Gallinago stenura* #	P	P	3, LC		H
84.大沙锥 *Gallinago megala* #	P	P	3, LC		H
85.扇尾沙锥 *Gallinago gallinago* #	P	P	3, LC		H
86.中杓鹬 *Numenius phaeopus* #	P	P	3, LC		H
87.白腰杓鹬 *Numenius arquata* #	P	W	3, NT		S
88.鹤鹬 *Tringa erythropus* #	P	P	3, LC		H
89.红脚鹬 *Tringa tetanus* #	P	P	3, LC		S
90.青脚鹬 *Tringa nebularia* #	P	P	3, LC		H
91.白腰草鹬 *Tringa ochropus* #	P	P	3, LC		S
92.林鹬 *Tringa glareola* #	P	P	3, LC		S
93.矶鹬 *Actitis hypoleucos* # *	P	P	3, LC	4	S
94.翻石鹬 *Arenaria interpres* #	P	P	3, LC		S
95.三趾滨鹬 *Calidris alba* #	P	P	3, LC		H
96.小滨鹬 *Calidris minuta* #	P	P	3, LC		S
97.青脚滨鹬 *Calidris temminckii* #	P	P	3, LC		S
98.弯嘴滨鹬 *Calidris ferruginea* #	P	P	3, LC		H
99.流苏鹬 *Philomachus pugnax* #	P	P	3, LC		H
（十七）鸥科 **Laridae**					
100.渔鸥 *Larus ichthyaetus* #	P	S, P	3, LC		S
101.棕头鸥 *Larus brunnicephalus* #	P	S, W	3, LC		S
102.红嘴鸥 *Larus ridibundus* #	P	W	3, LC		S
十八）燕鸥科 **Sternidae**					
103.普通燕鸥 *Sterna hirundo* #	C	S	3, LC		S
104.黑腹燕鸥 *Sterna acuticauda* #	P	P	3, EN		S
105.灰翅浮鸥 *Chlidonias hybrida* #	P	P	3, LC		H
IX **沙鸡目 PTEROCLIFORMES**					

续表

目名 Order/科名 Family/ 中文名 拉丁名 Chinese & Scientific name	区系 Fauna	居留型 Settlement type	特有性，国家保护级别, CITES, IUCN national endemism, National protection grade, CITES appendix, IUCN Red List	南坡海拔范围 Altitude range in southern slope	数据来源 Data source
（十九）沙鸡科 **Pteroclidae**					
106.西藏毛腿沙鸡# *Syrrhaptes tibetanus*	P	R	T, 3, LC		H
X **鸽形目 COLUMBIFORMES**					
（二十）鸠鸽科 **Columbidae**					
107.原鸽 *Columba livia* *	P	R	3, LC	1,2,3	S
108.岩鸽 *Columba rupestris* #*	P	R	3, LC	3,4,5	S
109.雪鸽 *Columba leuconota* *	P	R	3, LC	2,3	S
110.斑林鸽 *Columba hodgsonii* *	O	R	3, LC	1,2,3	S
111.灰林鸽 *Columba pulchricollis* *	O	R	3, LC	1,2	H
112.紫林鸽 *Columba punicea* *	O	R	3, VU	2	H
113.欧斑鸠 *Streptopelia turtur* *	P	R	3, LC	3	S
114.山斑鸠 *Streptopelia orientalis* *	C	R	3, LC	1,2,3	S
115.灰斑鸠 *Streptopelia decaocto* *	O	R	3, LC	1	H
116.火斑鸠 *Streptopelia tranquebarica* *	O	R	3, LC	1	H
117.珠颈斑鸠 *Streptopelia chinensis* *	O	R	3	1,2,3	H
118.楔尾绿鸠 *Treron sphenura* *	O	R	2	1	S
XI **鹃形目 CUCULIFORMES**					
119.斑翅凤头鹃 *Clamator jacobinus* *	O	S	3, LC	1	H
120.大鹰鹃 *Cuculus sparverioides* *	O	S	3, LC	1,2	S
121.四声杜鹃 *Cuculus micropterus* *	O	S	3, LC	2	S
122.大杜鹃 *Cuculus canorus* *	C	S	3, LC	1,2	S
123.中杜鹃 *Cuculus saturatus* *	C	S	3, LC	1,2	S
124.小杜鹃 *Cuculus poliocephalus* *	C	S	3, LC	1,2	S
125.八声杜鹃 *Cacomantis merulinus* *	O	S	3, LC	1	S
XII **鸮形目 STRIGIFORMES**					
（二十二）鸱鸮科 **Strigidae**					
126.雕鸮 *Bubo bubo* *	P	R	2, II, LC	1	H
127.灰林鸮 *Strix aluco* *	P	R	2, II, LC	3	H
128.领鸺鹠 *Glaucidium brodiei* *	O	R	2, II, LC	1	S
129.斑头鸺鹠 *Glaucidium cuculoides* *	O	R	2, II, LC	1	H
130.纵纹腹小鸮 *Athene noctua* #*	P	R	2, II, LC	5	S
131.长耳鸮 *Asio otus* *	P	R	2, II, LC	2,3	H
132.短耳鸮 *Asio flammeus* *	C	W	2, II, LC	2,3	H
XIII **夜鹰目 CAPRIMULGIFORMES**					
（二十三）夜鹰科 **Caprimulgidae**					
133.普通夜鹰 *Caprimulgus indicus* *	C	R	3, LC	1	H
134.林夜鹰 *Caprimulgus affinis* *	O	R	3, LC	1,2	S
XIV **雨燕目 APODIFORMES**					
（二十四）雨燕科 **Apodidae**					

续表

目名 Order/科名 Family/ 中文名 拉丁名 Chinese & Scientific name	区系 Fauna	居留型 Settlement type	特有性，国家保护级别, CITES, IUCN national endemism, National protection grade, CITES appendix, IUCN Red List	南坡海拔范围 Altitude range in southern slope	数据来源 Data source
135.短嘴金丝燕 *Aerodramus brevirostiris* #	O	R	3		S
136.普通楼燕 *Apus apus* *	P	P	3, LC		H
137.白腰雨燕 *Apus pacificus* # *	P	S	3, LC	2	S
138.小白腰雨燕 *Apus affinis* *	O	S	3, LC	1,2,3	S
XV **佛法僧目 CORACIIFORMRS**					
（二十五）翠鸟科 **Alcedinidae**					
139.普通翠鸟 *Alcedo atthis* *	C	R	3, LC	1	H
（二十六）佛法僧科 **Coraciidae**					
140.蓝胸佛法僧 *Coracias garrulous* *	P	S	3, NT	1	H
141.棕胸佛法僧 *Coracias benghalensis* *	O	R	3, LC	1	H
XVI **戴胜目 UPUPIFORMES**					
（二十七）戴胜科 **Upupidae**					
142.戴胜 *Upupa epops* # *	C	S	3, LC	2,3,4,5	S
XVII **鴷形目 PICIFORMES**					
（二十八）须鴷科 **Capitonidae**					
143.大拟啄木鸟 *Megalaima virens* *	O	R	3, LC	1,2	S
144.金喉拟啄木鸟 *Megalaima franklinii* *	O	R	3, LC	1	H
（二十九）响蜜鴷科 **Indicatoridae**					
145.黄腰响蜜鴷*Indicator xanthonotus* *	O	R	NT	1,2	S
（三十）啄木鸟科 **Picidae**					
146.蚁鴷 *Jynx torquilla*	C	S, P	3, LC	1,2	H
147.斑姬啄木鸟 *Picumnus innominatus* *	O	R	3, LC	1	S
148.棕腹啄木鸟 *Dendrocopos hyperythrus* *	O	R	3, LC	1,2,3	H
149.黄颈啄木鸟 *Picoidse darjellensis* *	O	R	3	1,2	S
150.赤胸啄木鸟 *Picoides cathpharius* *	O	R	3	1,2	S
151.大黄冠啄木鸟 *Picus flavinucha* *	O	R	3, LC	1	H
152.鳞腹绿啄木鸟 *Picus squamatus* *	O	R	3, LC	1,2,3	S
153.灰头绿啄木鸟 *Picus canus* *	C	R	3, LC	1,2	H
154.黄嘴栗啄木鸟 *Blythipicus pyrrhotis* *	O	R	3, LC	1	S
155.棕额啄木鸟 *Dendrocopos auriceps* *	O	R	LC	1,2	S
XVIII **雀形目 PASSERIFORMES**					
（三十一）百灵科 **Alaudidae**					
156.长嘴百灵 *Melanocorypha maxima* #	P	R	T, LC		H
157.大短趾百灵 *Calandrella brachydactyla* #	P	S	LC		H
158.细嘴短趾百灵 *Calandrella acutirostris* #	P	S	LC		S
159.短趾百灵 *Calandrella cheleensis* # *	P	S	LC	5	S
160.凤头百灵 *Galerida cristata* # *	P	R	LC	4	H
161.小云雀 *Alauda gulgula* # *	C	S	3, LC	3,4	S
162.角百灵 *Eremophila alpestris* # *	P	R	3, LC	4,5	S

续表

目名 Order/科名 Family/ 中文名 拉丁名 Chinese & Scientific name	区系 Fauna	居留型 Settlement type	特有性，国家保护级别， CITES, IUCN national endemism, National protection grade, CITES appendix, IUCN Red List	南坡海拔范围 Altitude range in southern slope	数据来源 Data source
（三十二）燕科 **Hirundinidae**					
163.崖沙燕 *Riparia riparia* # *	P	S	3, LC	4	S
164.岩燕 *Ptyonoprogne rupestris* *	C	R, S	3	3,4	S
165.家燕 *Hirundo rustica* # *	C	S	3, LC	4	S
166.毛脚燕 *Delichon urbica* *	P	S		1	H
167.烟腹毛脚燕 *Delichon dasypus* *	P	S	3, LC	1,2	S
168.黑喉毛脚燕 *Delichon nipalensis* *	O	R	3	1,2,3	S
（三十三）鹡鸰科 **Motacillidae**					
169.白鹡鸰 *Motacilla alba* #*	C	P	3, LC	2,3,4,5	S
170.黄头鹡鸰 *Motacilla citreola* # *	P	S	3, LC	4	S
171.黄鹡鸰 *Motacilla flava* *	P	P	3, LC	2,3,4	S
172.灰鹡鸰 *Motacilla cinerea* *	C	P	3, LC	1,2,3,4	S
173.平原鹨 *Anthus campestris* *	P	S	3, LC	1,2,3	H
174.布氏鹨 *Anthus godlewskii* *	P	S	3, LC	1,2,3	S
175.林鹨 *Anthus trivialis* *	P	P	3, LC	1,2,3,4	H
176.树鹨 *Anthus hodgsoni* # *	P	P	3, LC	1,2,3,4	S
177.粉红胸鹨 *Anthus roseatus* *	C	S	3, LC	2,3,4	S
（三十四）山椒鸟科 **Campephagidae**					
178.长尾山椒鸟 *Pericrocotus ethologus* *	O	S	3, LC	1,2	S
179.短嘴山椒鸟 *Pericrocotus brevirostris* *	O	S	3, LC	1,2,3	S
180.赤红山椒鸟 *Pericrocotus flammeus* *	O	R	3, LC	1	S
181.灰喉山椒鸟 *Pericrocotus solaris* *	O	R	3, LC	1	S
（三十五）鹎科 **Pycnonotidae**					
182.白颊鹎 *Pycnonotus leucogenys* *	O	R	LC	1	S
183.红耳鹎 *Pycnonotus jocosus* *	O	R	3, LC	1	S
184.黑短脚鹎 *Hypsipetes leucocephalus* *	O	R	3, LC	1	S
（三十六）伯劳科 **Laniidae**					
185.棕背伯劳 *Lanius schach* *	O	R	3, LC	2	S
186.灰背伯劳 *Lanius tephronotus* # *	P	S,P	3, LC	2,3	S
（三十七）黄鹂科 **Oriolidae**					
187.黑头黄鹂 *Oriolus xanthornus* *	O	S	3, LC	2	S
188.朱鹂 *Oriolus traillii* *	O	R	3, LC	1,2,3	S
189.鹊鹂 *Oriolus mellianus* *	O	S	3, VU	1,2	S
（三十八）卷尾科 **Dicruridae**					
190.黑卷尾 *Dicrurus macrocercus* # *	O	S	3, LC	1,2	S
191.灰卷尾 *Dicrurus leucophaeus* *	O	S	3, LC	1	S
（三十九）椋鸟科 **Sturnidae**					
192.灰头椋鸟 *Sturnia malabarica* *	O	R	3	1	H
（四十）鸦科 **Corvidae**					

续表

目名 Order/科名 Family/ 中文名 拉丁名 Chinese & Scientific name	区系 Fauna	居留型 Settlement type	特有性，国家保护级别, CITES, IUCN national endemism, National protection grade, CITES appendix, IUCN Red List	南坡海拔范围 Altitude range in southern slope	数据来源 Data source
193.黑头噪鸦 *Perisoreus internigrans* *	P	R	3, VU	3	H
194.松鸦 *Garrulus glandarius* *	P	R	LC	2,3	S
195.黄嘴蓝鹊 *Urocissa flavirostris* *	O	R	LC	1,2,3	S
196.蓝绿鹊 *Cissa chinensis* *	O	R	3, LC	2	S
197.灰树鹊 *Dendrocitta formosae* *	O	R	3, LC	1	H
198.喜鹊 *Pica pica* # *	C	R	3, LC	2,3,4	S
199.星鸦 *Nucifraga caryocatactes* *	P	R	LC	2,3	S
200.红嘴山鸦 *Pyrrhocorax pyrrhocorax* # *	P	R	3, LC	2,3,4,5	S
201.黄嘴山鸦 *Pyrrhocorax graculus* #*	P	R	LC	3,4,5	S
202.寒鸦 *Corvus monedula* #	P	W	LC		H
203.家鸦 *Corvus splendens* #	O	R	LC		H
204.大嘴乌鸦 *Corvus macrorhynchos* #*	C	R	LC	1,2,3,4,5	S
205.渡鸦 *Corvus corax* # *	C	R	3, LC	4	S
（四十一）河乌科 **Cinclidae**					
206.河乌 *Cinclus cinclus* *	P	R	LC	3,4	S
207.褐河乌 *Cinclus pallasii* *	C	R	LC	1,2,3	S
（四十二）鹪鹩科 **Troglodytidae**					
208.鹪鹩 *Troglodytes troglodytes* *	C	R	LC	3,4	S
（四十三）岩鹨科 **Prunellidae**					
209.领岩鹨 *Prunella collaris* # *	P	R	LC	4	H
210.高原岩鹨 *Prunella himalayana* # *	P	R	LC	4,5	H
211.鸲岩鹨 *Prunella rubeculoides* # *	P	R	LC	4,5	S
212.棕胸岩鹨 *Prunella strophiata* # *	P	R	LC	2,3,4	H
213.褐岩鹨 *Prunella fulvescens* # *	P	R	LC	3,4,5	S
（四十四）鸫科 **Turdidae**					
214.蓝短翅鸫 *Brachypteryx Montana* *	O	R	LC	1,2	S
215.黑胸歌鸲 *Luscinia pectoralis* *	P	S	LC	4	S
216.蓝喉歌鸲 *Luscinia svecicus* *	P	P	3	1,2	S
217.栗腹歌鸲 *Luscinia brunnea* *	P	S	LC	1,2	S
218.蓝歌鸲 *Luscinia cyane* *	P	P	3, LC	1	H
219.红胁蓝尾鸲 *Tarsiger cyanurus* *	P	S	3, LC	3	S
220.金色林鸲 *Tarsiger chrysaeus* *	O	S	LC	2,3	S
221.棕腹林鸲 *Tarsiger hyperythrus* *	O	R	3, LC	1	H
222.赭红尾鸲 *Phoenicurus ochruros* #*	P	S	LC	1,2,3,4,5	S
223.黑喉红尾鸲 *Phoenicurus hodgsoni**	P	S	LC	2,3,4	S
224.白喉红尾鸲 *Phoenicurus schisticeps* *	P	R	LC	2,3,4	H
225.北红尾鸲 *Phoenicurus auroreus* *	P	W	3, LC	2,3	S
226.红腹红尾鸲 *Phoenicurus erythrogaster* # *	P	S		3,4,5	S
227.蓝额红尾鸲 *Phoenicurus frontalis* *	P	R	LC	2,3,4	S

续表

目名 Order/科名 Family/ 中文名 拉丁名 Chinese & Scientific name	区系 Fauna	居留型 Settlement type	特有性，国家保护级别, CITES, IUCN national endemism, National protection grade, CITES appendix, IUCN Red List	南坡海拔范围 Altitude range in southern slope	数据来源 Data source
228.红尾水鸲 *Rhyacornis fuliginosus* *	C	R		1,2,3,4	S
229.白顶溪鸲 *Chaimarrornis leucocephalus* *	C	R	LC	1,2,3	S
230.白腹短翅鸲 *Hodgsonius phoenicuroides* *	P	R		1,2,3	S
231.蓝大翅鸲 *Grandala coelicolor* *	P	R	LC	2,3,4	H
232.白尾蓝地鸲 *Myiomela leucurum* *	O	R		1	S
233.小燕尾 *Enicurus scouleri* *	O	R	LC	1,2,3	S
234.黑背燕尾 *Enicurus immaculatus* *	O	R	LC	1,2	S
235.斑背燕尾 *Enicurus maculates* *	O	R	LC	1,2,3	S
236.黑喉石䳭 *Saxicola torquata* #*	P	P	3	1,2,3,4	S
237.灰林䳭 *Saxicola ferrea* *	O	R		1,2,3	S
238.漠䳭 *Oenanthe deserti* # *	P	R	LC	4,5	S
239.栗腹矶鸫 *Monticola rufiventris* *	O	R	LC	1,2	S
240.蓝矶鸫 *Monticola solitarius* *	C	R	LC	4	S
241.紫啸鸫 *Myophonus caeruleus* *	O	W	LC	1,2,3	S
242.光背地鸫 *Zoothera mollissima* *	O	S	LC	1,2	H
243.长尾地鸫 *Zoothera dixoni* *	O	W	LC	1,2,3	H
244.虎斑地鸫 *Zoothera dauma* *	C	P	3, LC	1,2	H
245.黑胸鸫 *Turdus dissimilis* *	O	P	3, LC	1,2	H
246.白颈鸫 *Turdus albocinctus* *	O	R	LC	1,2	S
247.灰翅鸫 *Turdus boulboul* *	O	W	LC	1,2	S
248.乌鸫 *Turdus merula* *	C	R	LC	2.3	H
249.灰头鸫 *Turdus rubrocanus* *	P	R	LC	2.3	H
250.赤颈鸫 *Turdus ruficollis* *	P	W	LC	2,3	S
（四十五）鹟科 **Muscicapidae**					
251.乌鹟 *Muscicapa sibirica* *	P	S	3, LC	1,2	S
252.北灰鹟 *Muscicapa dauurica* *	C	S	3, LC	1	S
253.橙胸姬鹟 *Ficedula strophiata* *	O	S	LC	1,2,3	S
254.棕胸蓝姬鹟 *Ficedula hyperythra* *	O	S	LC	2	S
255.白眉蓝姬鹟 *Ficedula superciliaris* *	O	S	LC	2,3	S
256.灰蓝姬鹟 *Ficedula tricolor* *	O	S	LC	2,3	S
257.铜蓝鹟 *Eumyias thalassina* *	O	S		1,2	S
258.小仙鹟 *Niltava macgregoriae* *	O	S		1,2	S
259.棕腹仙鹟 *Niltava sundara* *	O	S	LC	2,3	S
260.纯蓝仙鹟 *Cyornis unicolor* *	O	S	LC	1	S
261.侏蓝仙鹟 *Muscicapella hodgsoni* *	O	S	LC	1,2	S
262.方尾鹟 *Culicicapa ceylonensis* *	O	S	LC	1	S
（四十六）扇尾鹟科 **Rhipiduridae**					
263.黄腹扇尾鹟 *Rhipidura hypoxantha* *	O	S	LC	1,2,3	S
264.白喉扇尾鹟 *Rhipidura albicollis* *	O	S	LC	1,2	S

续表

目名 Order/科名 Family/ 中文名 拉丁名 Chinese & Scientific name	区系 Fauna	居留型 Settlement type	特有性，国家保护级别, CITES, IUCN national endemism, National protection grade, CITES appendix, IUCN Red List	南坡海拔范围 Altitude range in southern slope	数据来源 Data source
（四十七）画眉科 **Timaliidae**					
265.白喉噪鹛 *Garrulax albogularis* *	O	R	3, LC	1,2,3	S
266.条纹噪鹛 *Garrulax striatus* *	O	R	3, LC	1,2,3	S
267.眼纹噪鹛 *Garrulax ocellatus* *	O	R	3, LC	2	S
268.大噪鹛 *Garrulax maximus* *	O	R	C, 3, LC	2,3	S
269.细纹噪鹛 *Garrulax lineatus* *	O	R	3, LC	1,2,3,4	S
270.纯色噪鹛 *Garrulax subunicolor* *	O	R	3, LC	2,3	S
271.蓝翅噪鹛* *Garrulax squamatus*	O	R	3, LC	1	S
272.杂色噪鹛* *Garrulax variegates*	O	R	3	1,2,3,4	S
273.灰腹噪鹛* *Garrulax henrici*	O	R	C, 3, LC	2	S
274.黑顶噪鹛 *Garrulax affinis* *	O	R	3, LC	1,2,3	S
275.红头噪鹛 *Garrulax erythrocephalus* *	O	R	3, LC	1,2	S
276.斑胸钩嘴鹛 *Pomatorhinus erythrogenys* *	O	R	LC	1	S
277.棕颈钩嘴鹛 *Pomatorhinus ruficollis* *	O	R	LC	1	S
278.鳞胸鹪鹛 *Pnoepyga albiventer* *	O	R	LC	1,2,3	S
279.小鳞胸鹪鹛 *Pnoepyga pusilla* *	O	R	LC	1	H
280.红嘴相思鸟 *Leiothrix lutea* *	O	R	3, II, LC	1	S
281.红翅鵙鹛 *Pteruthius flaviscapis* *	O	R	LC	1	S
282.淡绿鵙鹛 *Pteruthius xanthochlorus* *	O	R	LC	1,2,3	S
283.栗喉鵙鹛 *Pteruthius melanotis* *	O	R	LC	1	H
284.纹头斑翅鹛 *Actinodura nipalensis* *	O	R	LC	2	S
285.纹胸斑翅鹛 *Actinodura waldeni* *	O	R	LC	1	H
286.栗额斑翅鹛 *Actinodura egertoni* *	O	R	LC	1	S
287.蓝翅希鹛 *Minla cyanouroptera* *	O	R	LC	1,2,3	S
288.斑喉希鹛 *Minla strigula* *	O	R	LC	1,2,3	S
289.金额雀鹛 *Alcippe variegaticeps* *	O	R	C, 3, VU	1	S
290.栗头雀鹛 *Alcippe castaneceps* *	O	R	LC	1,2	S
291.白眉雀鹛 *Alcippe vinipectus* *	O	R	LC	1,2,3	S
292.褐胁雀鹛 *Alcippe dubia* *	O	R	LC	2	S
293.白眶雀鹛 *Alcippe nipalensis* *	O	R	LC	2	S
294.黑顶奇鹛 *Heterophasia capistrata* *	O	R	LC	1,2,3	S
295.黄颈凤鹛 *Yuhina flavicollis* *	O	R	LC	1,2,3	S
296.纹喉凤鹛 *Yuhina gularis* *	O	R	LC	2,3	S
297.棕臀凤鹛 *Yuhina occipitalis* *	O	R	LC	2,3	S
298.火尾绿鹛 *Myzornis pyrrhoura* *	O	R	LC	1,2,3	S
（四十八）鸦雀科 **Paradoxornithidae**					
299.红嘴鸦雀 *Conostoma oemodium* *	O	R	3, LC	1,2,3	S
300.褐鸦雀 *Paradoxornis unicolor* *	O	R	LC	1,2,3	H
301.黑喉鸦雀 *Paradoxornis nipalensis* *	O	R	3, LC	1	H

续表

目名 Order/科名 Family/ 中文名 拉丁名 Chinese & Scientific name	区系 Fauna	居留型 Settlement type	特有性，国家保护级别， CITES, IUCN national endemism, National protection grade, CITES appendix, IUCN Red List	南坡海拔范围 Altitude range in southern slope	数据来源 Data source
（四十九）扇尾莺科 **Cisticolidae**					
302.山鹪莺 *Prinia criniger*	O	R		1,2	S
303.灰胸山鹪莺 *Prinia hodgsonii* *	O	R		1	S
（五十）莺科 **Sylviidae**					
304.栗头地莺 *Tesia castaneocoronata* *	O	R	LC	1,2	S
305.金冠地莺 *Tesia olivea* *	O	R	LC	1	H
306.灰腹地莺 *Tesia cyaniventer* *	O	R	LC	1,2	S
307.淡脚树莺 *Cettia pallidipes* *	O	R	LC	1	S
308.强脚树莺 *Cettia fortipes* *	O	R	LC	1	H
309.大树莺 *Cettia major* *	O	R	LC	2,3	S
310.异色树莺 *Cettia flavolivaceus* *	O	R		1,2,3,4	H
311.黄腹树莺 *Cettia acanthizoides* *	O	R	LC	1,2,3	S
312.棕顶树莺 *Cettia brunnifrons* *	O	R	LC	2,3,4	S
313.斑胸短翅莺 *Bradypterus thoracicus* *	C	S	LC	3,4	H
314.花彩雀莺 *Leptopoecile sophiae* *	P	R	LC	1,2,3,4	H
315.褐柳莺 *Phylloscopus fuscatus* # *	P	S	3, LC	2,3	S
316.黄腹柳莺 *Phylloscopus affinis* # *	P	S	3, LC	1,2,3,4	S
317.橙斑翅柳莺 *Phylloscopus pulcher* *	O	R	3, LC	2,3	S
318.灰喉柳莺 *Phylloscopus maculipennis* *	O	S	3, LC	2,3	S
319.淡黄腰柳莺 *Phylloscopus chloronotus* *	O	W, P	LC		S
320.黄腰柳莺 *Phylloscopus proregulus* # *	C	S	3, LC	2,3	S
321.黄眉柳莺 *Phylloscopus inornatus* *	C	P	3, LC	1,2,3	S
322.淡眉柳莺 *Phylloscopus humei* *	P	S	LC	2,3	S
323.极北柳莺 *Phylloscopus borealis* *	P	P	3, LC	1,2	S
324.暗绿柳莺 *Phylloscopus trochiloides* *	P	S	3, LC	2,3	S
325.乌嘴柳莺 *Phylloscopus magnirostris* *	P	S	3, LC	1,2,3	S
326.冕柳莺 *Phylloscopus coronatus* *	P	P	3, LC	1	S
327.冠纹柳莺 *Phylloscopus reguloides* *	O	S	3, LC	3	S
328.金眶鹟莺 *Seicercus burkii* *	O	S	LC	2,3	S
329.韦氏鹟莺 *Seicercus whistleri* *	O	S	LC	2,3	S
330.比氏鹟莺 *Seicercus valentinei* *	O	S	LC	1,2,3	S
331.灰头鹟莺 *Seicercus xanthoschistos* *	O	S		1,2	S
332.灰脸鹟莺 *Seicercus poliogenys* *	O	S	LC	1,2	S
333.栗头鹟莺 *Seicercus castaniceps* *	O	S	LC	1,2	S
334.黑脸鹟莺 *Abroscopus schisticeps* *	O	R	LC	1,2	H
（五十一）戴菊科 **Regulidae**					
335.戴菊 *Regulus regulus* *	P	R	3, LC	2,3	S
（五十二）绣眼鸟科 **Zosteropidae**					
336.暗绿绣眼鸟 *Zosterops japonicus**	O	R	3, LC	1,2,3	S

续表

目名 Order/科名 Family/ 中文名 拉丁名 Chinese & Scientific name	区系 Fauna	居留型 Settlement type	特有性，国家保护级别, CITES, IUCN national endemism, National protection grade, CITES appendix, IUCN Red List	南坡海拔范围 Altitude range in southern slope	数据来源 Data source
（五十三）长尾山雀科 **Aegithalidae**					
337.红头长尾山雀 *Aegithalos concinnus* *	O	R	3, LC	1,2	S
378.大朱雀 *Carpodacus rubicilla* #	P	R	3, LC	3,4	S
379.红胸朱雀 *Carpodacus puniceus*	P	R	3, LC	4,5	H
380.红交嘴雀 *Loxia curvirostra* *	C	W	3, LC	2	S
381.高山金翅雀 *Carduelis spinoides* *	O	R	LC	1,2,3	S
382.黄嘴朱顶雀 *Carduelis flavirostris* # *	P	R	3, LC	3,4	S
383.金额丝雀 *Serinus pusillus* *	P	R	LC	3,4	S
384.红头灰雀 *Pyrrhula erythrocephala* *	P	R	T, H, 3, LC	1,2,3	S
385.黄颈拟蜡嘴雀 *Mycerobas affinis* *	O	R	LC	2,3	S
386.白点翅拟蜡嘴雀 *Mycerobas melanozanthos* *	O	R	LC	2,3	H
387.白斑翅拟蜡嘴雀 *Mycerobas carnipes* *	P	R	LC	2,3,4	S
388.金枕黑雀 *Pyrrhoplectes epaulette* *	O	R	3, LC	2,3	S
389.血雀 *Haematospiza sipahi* *	O	R	3, LC	2,3	S
（六十二）鹀科 **Emberizidae**					
390.淡灰眉岩鹀 *Emberiza cia* *	P	R	3, LC	3,4	H

#：北坡分布；*：南坡分布；地理区系：O：东洋界；P：古北界；C：广布种；居留型：R：留鸟；S：夏候鸟；W：冬候鸟；P：旅鸟；特有种：C：中国特有；T：青藏高原特有；H：喜马拉雅山脉特有；国家保护级别：1 ：国家 I 级；2：国家 II 级；3 ："三有"保护；；CITES 附录：I ：CITES 附录 I；II：CITES 附录 II；III：CITES 附录 III；IUCN 红色名录：EN：濒危；VU：易危；NT：近危；LC：无危；空白：未被评估；南坡海拔段范围：1：1600~2500 m; 2： 2500~3100 m; 3：3100~4000 m; 4： 4000~4800 m; 5：4800~5500 m；资料来源：S：调查到实体；H：资料。

#: Distributed in the Northern slope; *: Distributed in the Southern slope; Fauna: O: Oriental realm; P: Palearctic realm; C: Cosmopolite species; Settlement type: R: Resident bird; S: Summer migratory bird; W: Winter migratory bird; P: Migrant bird; Endemism: C: Endemic to Chinese; T: Endemic to the Qinghai-Tibetan Plateau; H: Endemic to the Himalayas；National Protection Grade: 1: Grade one; 2: Grade two; 3: Grade three; CITES Appendix: I: CITES Appendix I; II: CITES Appendix II; III: CITES Appendix III; IUCN Red List: EN: Extinction; VU: Vulnerable; NT: Near threatened; LC: Least concern; Blank stands for unevaluated species; Altitude range in southern slope: 1: 1600−2500 m; 2: 2500−3100 m; 3: 3100−4000 m; 4: 4000−4800 m; 5: 4800−5500 m; Data source: S: Survey data; H: Historical data.

动　物　学　研　究　2013，Dec. 34(6): 549−555　　CN 53-1040/Q　ISSN 0254-5853
Zoological Research　　DOI:10.11813/j.issn.0254-5853.2013.6.0549

鄱阳湖国家级自然保护区东方白鹳（*Ciconia boyciana*）种群数量变化与气候的关系

缪泸君，李言阔*，李　佳，谢光勇，袁芳凯

江西师范大学 生命科学学院，江西 南昌 330026

摘要：该研究分析了 1985—2011 年鄱阳湖国家级自然保护区东方白鹳（*Ciconia boyciana*）越冬种群数量的年际变化趋势，探究了越冬地气候条件对其种群数量变化的影响。结果表明，1985—2011 年，保护区东方白鹳种群数量为（1 340±178）只，呈显著线性增长趋势，但年际波动较大。种群数量与越冬当年 11 月份的平均最低气温显著正相关（r=0.554，P=0.003，n=27），越冬初期较低的温度可能影响东方白鹳选择鄱阳湖作为长期越冬地的决策，而增加对长江中、下游其他湿地的利用。同时，越冬地气候条件对种群数量的影响存在显著的时滞效应。越冬初期以及越冬后期的气温变量与 2~9 年后的种群数量显著正相关。尤其是越冬初期 10 月份的气温变量与 2~5 年后的种群数量变化极显著相关，越冬后期 2 月和 3 月的气温变量分别与 8 年后和 3 年后的种数数量极显著正相关。多元线性回归分析结果表明，2 年前的 10 月平均最高温度、2 年前的 3 月平均最高气温、4 年前的 10 月平均最高温度、4 年前的 3 月平均气温是东方白鹳种群数量变化的显著预测变量，共同解释了种群数量年际变化的 79.2% （R^2=0.792，F=20.901，df=26，P=0.000）。越冬初期和末期可能是个体迁飞后补充能量和迁飞前积累能量的关键阶段，适宜的气温有利于成体的能量积累和幼体的存活，且东方白鹳性成熟年龄为 2~6 年，因此，越冬地气候条件对其种群增长的影响将会在 2 年后体现。

关键词：鄱阳湖；东方白鹳；种群数量波动；气候变化
中图分类号：Q959.7　　**文献标志码**：A　　**文章编号**：0254-5853-(2013)06-0549-07

The correlations between population of Oriental white stork and climate change in the Poyang Lake National Nature Reserve

Lu-Jun MIAO, Yan-Kuo LI, Jia LI, Guang-Yong XIE, Fang-Kai YUAN

College of Life Sciences, *Jiangxi Normal University*, *Nanchang* 33022, *China*

Abstract: This study analyzed the population dynamics of the Oriental white stork (*Ciconia boyciana*) wintering in the Poyang Lake National Nature Reserve (PLNNR) from 1985 to 2011, to see if there was any relationship with climate change. Testing of several climate variables—monthly average temperature, monthly average maximum and minimum temperature, as well as monthly precipitation—indicated that the population size of the Oriental white stork in the PLNNR was 1,340±178 ind., with significant linear increase and drastic annual fluctuation. Every single year, the population size only significantly correlated with the average minimum temperature of Nov. In theory, the low temperature of Nov. could drive individuals to choose other wetlands in the middle and lower reaches of the Yangtze River, instead of the Poyang Lake as wintering habitats. Meanwhile, temperatures in wintering areas also showed a carry-over effect on subsequent population size. Temperatures in primary stage and later stage of wintering period were significantly correlated with population size 2−9 years later, while the temperature of Oct. was highly significantly correlated with population size 2−5 years after. Temperatures of Feb. and Mar. in the later stage of wintering period were highly significantly correlated with population size of 8 and 3 years after, respectively. Moreover, the stepwise linear regression result showed that the average maximum temperature of Oct. and average maximum temperature of Mar. 2 years ago, as well as the average maximum temperature of Oct. and the average temperature of Mar. 4 years ago were significant predictor factors of the population size fluctuation of the Oriental white stork, which totally accounted for 79.2% of the population size change.

Keywords: Poyang Lake; Oriental white stork; Population fluctuation; Climate change

收稿日期：2013-09-27；接受日期：2013-10-24
基金项目：国家自然科学基金 (31000196)；“国家级自然保护区生态环境十年变化调查与评估”（环保重大专项，STSN-7）
*通信作者（Corresponding author），E-mail: liyankuo@126.com
第一作者简介：缪泸君，男，硕士研究生；研究方向：动物生态学；E-mail：miaolujun@126.com

气候条件是影响生物生存的重要环境因子。气候及其变化对种群数量波动的影响是鸟类学家关注的焦点之一。近年来的研究表明，气候变化会对鸟类的种群数量动态产生较强的影响（Both et al，2006；Crick，2004）。例如，极端气候事件可能会直接导致死亡率的迅速提高，甚至导致局部种群的灭绝（Schreiber et al，1984）。天气条件也可能通过改变食物资源的数量和质量影响成体存活率和繁殖成功率，进而影响鸟类的种群数量（Cormont et al，2012）。该影响具有一定的时滞性，即在生活史某一阶段的气候条件对种群的影响需经过一定的时间方才显现（Yalden & Pearce-Higgins，1997）。某些留鸟成体的存活率与非繁殖期的天气条件存在显著相关性（Jones et al，2003），越冬期的不利天气将导致迁徙鸟类繁殖成功率下降，第二年种群数量下降。譬如，大天鹅（*Cygnus cygnus*）在越冬地幼体的比例与上一年冬季的平均气温显著相关，冬季气温将影响后期的繁殖成功率（Nilsson，1979）。

大多数迁徙鸟类种群数量的年际变化主要受其繁殖地生存条件的影响，但也有研究发现某些迁徙鸟类的种群数量受其越冬地生存条件的影响，如水蒲苇莺（*Acrocephalus schoenobaenus*）、崖沙燕（*Riparia riparia*）及草鹭（*Ardea purpurea*）等（Peach et al，1991；Bryant et al，1995；Den Held，1981）。对于雁鸭类等水禽，其后期的繁殖成功率还受越冬地和迁徙停歇地食物条件等因素的影响（Newton，2004）。因此，迁徙鸟类种群动态制约因素研究需考虑繁殖地、越冬地及迁徙停歇地的环境条件。

东方白鹳（*Ciconia boyciana*）全球种群现存仅~3 000 只个体，被 IUCN 红皮书列为濒危物种（Birdlife International，2013），也是我国国家 I 级重点保护野生动物（China Wildlife Propagation Institution for Protection，1989）。东方白鹳繁殖地主要位于中国和俄罗斯交界的黑龙江和乌苏里江流域，越冬地为我国长江中、下游地区（Birdlife International，2013）。其中，鄱阳湖区是东方白鹳在长江中、下游地区的主要越冬地。近年来，该区越冬东方白鹳种群数量表现出较大波动（Li et al，2011）。本研究分析鄱阳湖国家级自然保护区（以下简称保护区）1985—2011 年（27 a）越冬东方白鹳种群数量的年际变化与越冬地气候变化的相关性及时滞效应，以及基于越冬地气候条件的种群数量波动模型与种群波动趋势的拟合程度。

1 材料与方法

1.1 研究地区概况

鄱阳湖湿地是我国最大的淡水湖泊湿地，位于长江南岸的江西省北部（E115°49′~116°46′，N28°11′~29°51′）。鄱阳湖为季节性吞吐型湖泊，承接赣江、抚河、信江、饶河及修水五大河来水，并受长江来水影响，水位年变幅达 9.79~15.36 m，4 月进入汛期，呈湖相，7 月达最高水位，11 月进入枯水期，并持续至翌年 3 月，表现为典型的水陆交替湿地景观（Liu et al，2011）。气候特征属亚热带湿润季风型气候，热量丰富，雨量充沛，无霜期长，四季分明（Wang，2004）。1980—2011 年鄱阳湖区年平均温度为 18.0 ℃，并呈上升趋势，气温季节性变化明显，年平均降水量 1 607 mm，年际变化大，无明显增减趋势（图 1）。

鄱阳湖湿地已记录迁徙水鸟 310 种。其中，冬候鸟 155 种，夏候鸟 107 种，是白鹤（*Grus leucogeranus*）、白头鹤（*G. monacha*）、白枕鹤（*G.vipio*）、灰鹤（*G.grus*）、东方白鹳、小天鹅（*Cygnus columbianus*）等珍稀濒危鸟类的重要越冬地（Wu et al，2002）。

1.2 研究方法

保护区 1985—2011 年东方白鹳越冬种群数量数据来源包括：（1）1985—2000 年、2002—2006 年以及 2009 年保护区东方白鹳年度最大种群数量（Wu & Ji，2002；Li et al，2011）；（2）2007、2008、2010 及 2011 年保护区东方白鹳年度最大种群数量（Zhu et al，2012a，b）。（3）1998 年及 2001 年环鄱阳湖水鸟调查所记录的东方白鹳种群数量（Li et al，2013）。其中，历年的东方白鹳种群数量均为保护区越冬种群的最大记录值。根据候鸟到达和迁离鄱阳湖的时间，将东方白鹳的越冬期分为越冬初期（当年 10 月—11 月）、越冬中期（当年 12 月—翌年 1 月）及越冬后期（翌年 2 月—3 月）。气象数据引用《中国地面气候资料月值数据集》南昌监测站 1975—2011 年的月值资料。

以种群数量为因变量，年份为自变量，采用曲线回归法分析保护区 1985—2011 年东方白鹳越冬种群数量的年际变化。利用 Kolmogorov-Smirnov test 及 Pearson 相关分析检验种群数量动态与越冬期各月平均气温、平均最低与最高气温

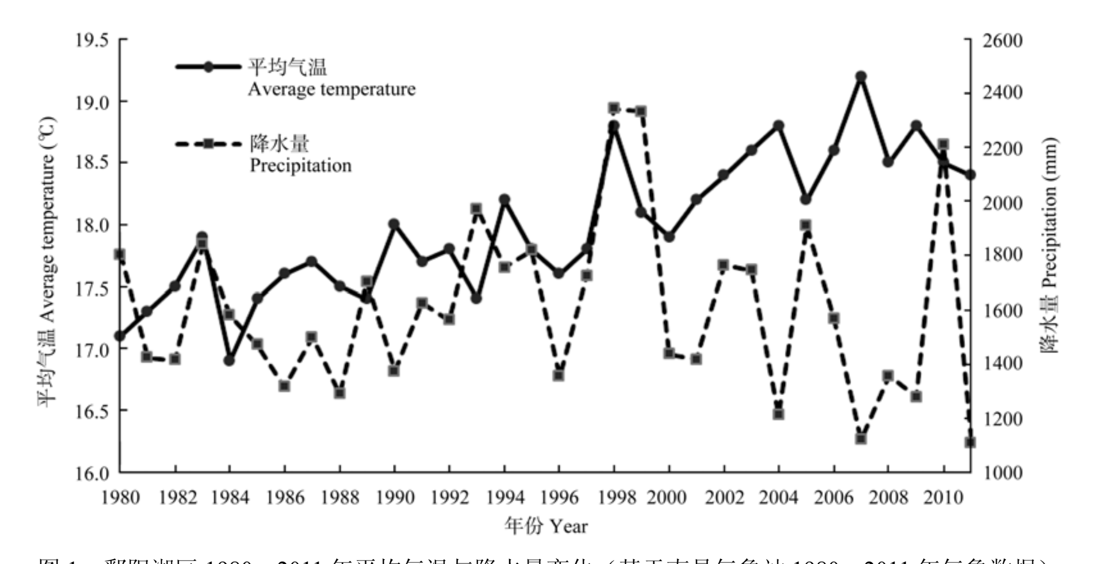


图 1　鄱阳湖区 1980—2011 年平均气温与降水量变化（基于南昌气象站 1980—2011 年气象数据）
Figure 1　Changes in annual average temperature and precipitation in the Poyang Lake from 1980 to 2011 （based on the data of Nanchang weather station）

以及月降水量等气候变量的相关性。检验越冬地气候变量与其后 10 年内东方白鹳种群数量的相关性以分析气候变量影响的时滞效应。同时，对东方白鹳种群数量动态相关性分析结果进行检验以消除极端值的影响。此外，以保护区东方白鹳种群数量为因变量，以与其显著相关的气候变量作为自变量，进行 Stepwise 多元线性回归分析，建立保护区东方白鹳种群数量动态预测模型，并使用 VIF 值进行共线性诊断（Yang & Zhang，2000；Yang et al，2012；Chatterjee & Price，1991）。数值统计以 mean±*SE* 表示，数据分析在 Spss13.0 中完成。

2　结　果

2.1　东方白鹳种群数量年际变化

1985—2011 年，保护区东方白鹳平均越冬种群数量为（1340±177）只，最小种群数量出现在 1992 年，为 321 只，最大种群数量出现在 2010 年，为 3446 只，年际波动较大（图 2）。自 1998 年开始，越冬种群数量明显增加，1984—1997 年，为（609±49）只，1998—2011 年，为（2 018±215）只，种群数量整体呈显著线性增长趋势（R^2=0.735，F=69.414，df=26，P<0.01）。

2.2　东方白鹳种群数量与越冬地气候变量的关系

1985—2011 年，越冬初期，保护区东方白鹳种群数量与越冬初期 10 月份降水量（r=0.069，P=0.731，n=27）、平均气温（r=0.323，P=0.100，n=27）、平均最低气温（r=0.378，P=0.052，n=27）及平均最高气温（r=0.205，P=0.305，n=27）均不相关；与 11 月份降水量（r=0.110，P=0.585，n=27）、平均最高气温（r=0.209，P=0.306，n=26）及平均

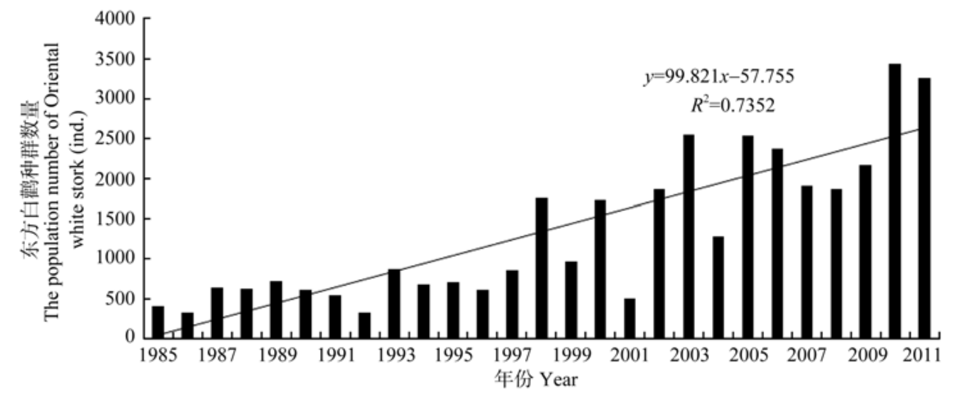


图 2　鄱阳湖国家级自然保护区 1985—2011 年东方白鹳种群数量年际变化
Figure 2　Annual population dynamics of the Oriental white stork in the PLNNR from 1985 to 2011

气温（r=0.317，P=0.115，n=26）均不相关；与 11 月平均最低气温显著正相关（r=0.554，P=0.003，n=27）。

越冬中期，种群数量与12月份降水量（r=0.113，P=0.573，n=27）、平均气温（r=0.080，P=0.692，n=27）、平均最低气温（r=0.201，P=0.315，n=27）及平均最高气温（r=−0.059，P=0.771，n=27）均不相关，与 1 月份降水量（r=−0.0160，P=0.424, n=27）、平均气温（r=−0.230，P=0.249，n=27）、平均最低气温（r=−0.139，P=0.490，n=27）及平均最高气温（r=−0.303，P=0.124，n=27）均不相关。

越冬后期，种群数量与 2 月份降水量（r=−0.031，P=0.878，n=27）、平均气温（r=0.192，P=0.337，n=27）、平均最低气温（r=0.195，P=0.329，n=27）及平均最高气温（r=0.191，P=0.339，n=27）均不相关，与 3 月份降水量（r=−0.171，P=0.394，n=27）、平均气温（r=0.270，P=0.173，n=27）、平均最低气温（r=0.210，P=0.293，n=27）及平均最高气温（r=0.306，P=0.120，n=27）均不相关。

2.3 气候对种群数量影响的时滞效应

考虑时滞效应，越冬初期，10 月平均最低气温与一年后（r=0.461，P=0.016，n=27）及两年后（r=0.579，P=0.002，n=27）的东方白鹳种群数量均显著正相关；10 月份平均气温与两年后（r=0.730，P=0.000，n=27）及 5 年后的种群数量（r=0.511，P=0.006，n=27）均显著正相关；10 月平均最高气温与两年后（r=0.777，P=0.000，n=27，图 3）、四年后（r=0.612，P=0.001，n=27）及 5 年后的种群数量（r=0.501，P=0.008，n=27）均显著正相关；11 月平均气温（r=0.472，P=0.013，n=27）及 11 月平均最低气温（r=0.463，P=0.015，n=27）均与四年后的种群数量显著正相关。

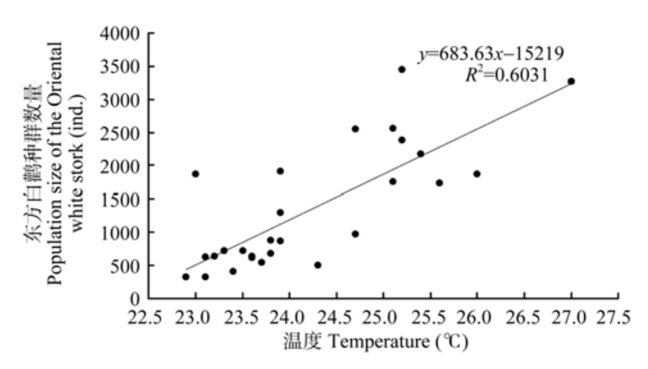


图 3 鄱阳湖国家级自然保护区 1985—2011 年东方白鹳种群数量与越冬地 2 年前 10 月份平均最高气温相关性

Figure 3 Correlations of the population size of the Oriental white stork in the PLNNR and the average maximum temperature of Oct. 2 years ago

越冬中期，12 月气候变量与其后 10 年内东方白鹳种群数量动态变化无显著相关性，1 月平均最低气温与 5 年后的种群数量显著正相关（r=0.427，P=0.026，n=27）。

越冬后期，2 月份平均气温与两年后（r=0.471，P=0.013，n=27）、8 年后（r=0.610，P=0.001，n=27）及 9 年后（r=0.557，P=0.003，n=27）的种群数量均显著正相关；2 月份平均最高气温与两年后（r=0.449，p=0.019，n=27）、8 年后（r=0.580，P=0.002，n=27）及 9 年后（r=0.444，P=0.020，n=27）的种群数量均显著正相关；2 月份平均最低气温与 8 年后（r=0.602，P=0.001，n=27）及 9 年后的种群数量（r=0.628，P=0.000，n=27）均显著正相关。3 月份平均气温与一年后（r=0.396，P=0.041，n=27）、两年后（r=0.483，P=0.026，n=27）、3 年后（r=0.461，P=0.045，n=27）、4 年后（r=0.705，P=0.000，n=27，图 4）、6 年后（r=0.452，P=0.018，n=27），9 年后（r=0.441，P=0.021，n=27）及 10 年后的种群数量（r=0.405，P=0.036，n=27）均显著正相关。

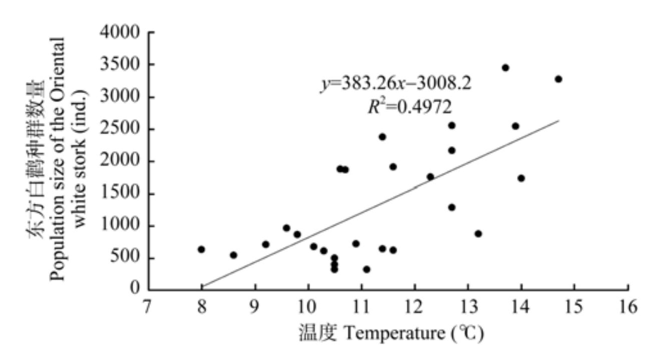


图 4 鄱阳湖国家级自然保护区 1985—2011 年东方白鹳种群数量与越冬地 4 年前 3 月份平均气温的相关性

Figure 4 Correlations of the population size of the Oriental white stork in the PLNNR and the average temperature of Mar. 4 years ago

3 月份平均最低气温与两年后（r=0.428，P=0.026，n=27）、3 年后（r=0.408，P=0.035，n=27）、4 年后（r=0.673，P=0.000，n=27，图 5）、6 年后（r=0.383，P=0.049，n=27）及 9 年后的种群数量（r=0.427，P=0.026，n=27）均显著正相关。

3 月份平均最高气温与两年后（r=0.516，P=0.006，n=27）、3 年后（r=0.479，P=0.011，n=27）、4 年后（r=0.672，P=0.000，n=27，图 6）及 6 年后的种群数量（r=0.462，P=0.015，n=27）均显著正相关。

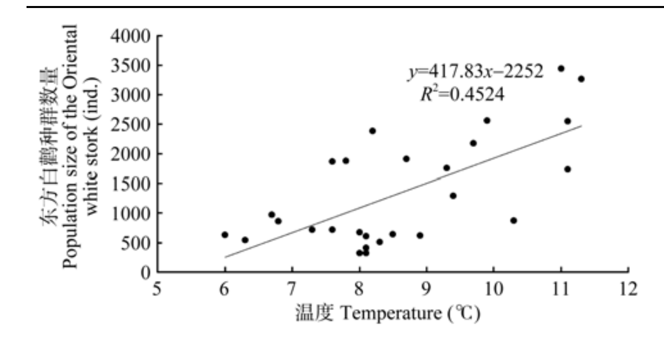


图 5 鄱阳湖国家级自然保护区 1985—2011 年东方白鹳种群数量与越冬地 4 年前 3 月份平均最低气温相关性

Figure 5 Correlations of the population size of the Oriental white stork in the PLNNR and the average minimum temperature of Mar. 4 years ago

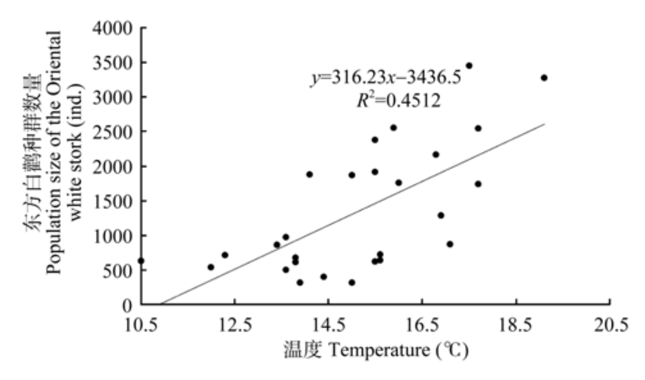


图 6 鄱阳湖国家级自然保护区 1985—2011 年东方白鹳种群数量与越冬地 4 年前 3 月份平均最高气温相关性

Figure 6 Correlations of the population size of the Oriental white stork in the PLNNR and the average maximum temperature of Mar. 4 years ago

2.4 基于气候变量的东方白鹳种群数量预测模型

将保护区 1985—2011 年东方白鹳越冬种群数量作为因变量，与其存在显著相关性的气候变量作为自变量，进行 Stepwise 线性回归分析，结果表明，两年前的 10 月平均最高温度、4 年前的 10 月最高温度、4 年前的 3 月平均气温及两年前的 3 月平均最高气温为显著预测变量（表 1）。其中，4 个变量的 VIF 值均＜5，表明进入模型的变量不存在显著共线性。模型中的 4 个变量共同解释了保护区东方白鹳种群数量变化的 79.2%（R^2=0.792，F=20.901，df=26，P=0.000）。

回归模型为 $Y=-15624+303.554X_1+251.510X_2+164.669X_3+112.250X_4$，其中 Y 为保护区东方白鹳越冬种群数量，X_1 为两年前 10 月平均最高气温，X_2 为 4 年前的 10 月平均最高气温，X_3 为四年前的 3 月平均气温，X_4 为两年前的 3 月平均最高气温。该模型较好地拟合了保护区东方白鹳种群数量变化趋势（图 7）。

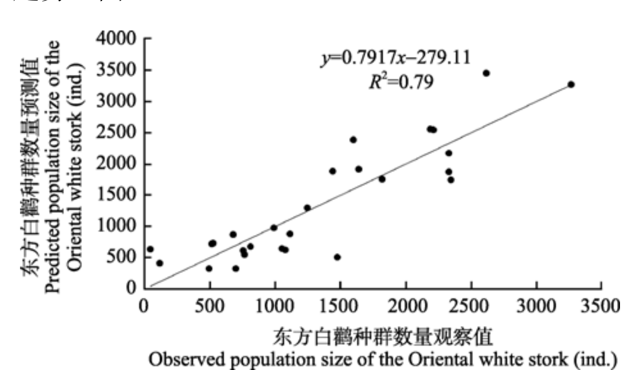


图 7 基于越冬地气候条件的东方白鹳种群数量变化模型的预测值与观察值比较

Figure 7 Comparisons of the predicted and observed population size of the Oriental white stork in the PLNNR

3 讨 论

在全球气候变暖的背景下，理解一个迁徙物种某一生活史阶段的气候条件如何对其后来的存活施加影响，已成为重要研究议题（McKellar et al，2012）。迁徙鸟类，尤其是长距离迁徙鸟类，其越冬地、迁徙停歇地和繁殖地气候条件差别极大，并均可能影响种群数量。东方白鹳主要在长江中、下游地区，尤其是鄱阳湖区越冬，越冬地相对固定。

表 1 1985—2011 年鄱阳湖国家级自然保护区东方白鹳种群数量与气候变量的线性回归分析

Table 1 The stepwise linear regression analysis for dependent variable of the Oriental White Stork population size during 1985−2011 and independent variables of climate

自变量 Independent variable	Standard coefficient	t	Sig.	VIF
常数项 Constant		−5.943	0.000	
2 年前 3 月平均最高气温 Average temperature of Mar. 2 years ago	0.240	2.134	0.044	1.331
4 年前 3 月平均最高气温 Average temperature of Mar. 4 years ago	0.303	2.409	0.025	1.670
2 年前 10 月平均最高气温 Average temperature of Oct. 2 years ago	0.345	2.459	0.022	2.077
4 年前 10 月平均最高气温 Average temperature of Oct. 4 years ago	0.305	2.712	0.013	1.322

分析其越冬地气候变化对该种群的影响可以消除广泛分布区的影响，有利于揭示气候变化与种群波动的关系。本研究发现越冬地气温变量是东方白鹳种群数量波动的显著预测因子，提供了一个气候变化影响鸟类种群数量动态的例证。

本研究发现东方白鹳种群数量与越冬当年 11 月份的平均最低气温显著正相关，与越冬当年其他月份的气候变量均无显著相关性。一般来说，除非出现极端不利的气候事件，否则越冬当年的气候条件对东方白鹳种群数量通常不会产生很大的影响。东方白鹳一般于 10 月底到达鄱阳湖，最早到达记录见于 2001 年和 2005 年的 10 月 15 日（Li et al，2011）。11 月份是东方白鹳到达鄱阳湖的高峰，此时，最低气温显然不可能对东方白鹳个体产生直接作用。我们推测，由于不必像繁殖季节被限制在以巢址为中心的有限区域活动，越冬期鸟类相对自由，可以活跃移动，寻找食物资源丰富的地区。越冬初期的鄱阳湖低温可能会使东方白鹳在接下来的越冬期间往来迁飞于长江中、下游的众多湿地，寻找适宜的栖息地，增加对鄱阳湖以外区域的利用，导致在鄱阳湖区越冬个体数量的减少。卫星跟踪研究发现，东方白鹳个体在越冬期的飞行距离可达数百公里（Van den Bossche et al，2001），在安徽省的升金湖和江西省的鄱阳湖之间迁飞，越冬范围没有局限在单一的湿地内（Wu et al，2000）。

本研究首次发现越冬地气候条件对东方白鹳种群数量变化的影响存在显著的时滞效应，即越冬地气温对种群的影响至少在 1 年后开始变得明显，并与 4 年后种群数量的变化存在极显著相关性，越冬期气温的升高伴随着 4 年后种群数量的极显著增加。该时滞效应可能与气候对幼体的影响以及东方白鹳的性成熟年龄有关。近年来，有研究发现有东方白鹳个体 2 岁龄达到性成熟（Jiang，2013），适宜的冬季气候条件更有利于幼鹳度过越冬期，使得更多的个体得以存活到繁殖年龄，并于 2 年后参加繁殖，导致 2 年后种群数量的增加。该时滞效应也见于气候对白鹤种群的影响。鄱阳湖冬季气候对白鹤种群数量的影响在 3 年后开始明显，可能与白鹤的性成熟年龄在 3—5 年有关（Li et al，2013）。

反之，越冬地恶劣的气候会导致几年后东方白鹳种群数量的减少。一方面，鄱阳湖水面结冰会对涉禽造成直接伤害，并可能造成个体数量的减少。如 2012 年冬季，在对保护区巡护监测中曾发现一只东方白鹳被冰冻住双腿而受伤（Yu，2013）。我们在鄱阳湖区的鸟类调查过程中也曾两次发现死亡的东方白鹳个体。另一方面，冬季寒冷的天气会增加动物体温调节所需的能量（Hobbs，1989），而恶劣的冬季可能伴随着食物可获得性的下降，譬如，寒冷冬季雨后或雪后的结冰使东方白鹳无法取食，能量供求之间的不平衡会增加冬季死亡率，即使没有直接导致个体的死亡，也可能影响东方白鹳的能量积累，使其体况下降。

能量是影响迁徙鸟类种群动态的一个重要因子。若能量储存不足，一些个体将无法及时迁徙，从而留在越冬地（Van Dijk et al，1990）。在停歇地如果不能补充到充足的能量，个体尤其是幼体被捕食的概率会增大（Bijlsma & Jones，1990）。本研究发现，2 年前的 10 月平均最高温度和 3 月平均最高气温、4 年前的 10 月最高温度和 3 月平均气温是东方白鹳种群数量年际变化趋势的显著预测变量，共同解释了保护区东方白鹳种群数量变化的 79.2%。这两个月份是东方白鹳的越冬初期和越冬末期，是结束和重启长距离迁徙的阶段，可能是种群补充能量的关键时期，这两个时期越冬地恶劣的天气可能会导致个体无法获得充足的能量，不利于能量恢复和积累，从而对种群数量带来不利影响。

参考文献：

Bijlsma RG. 1990. Predation by large falcons on wintering waders on the Banc d'Arguin, Mauritania. *Ardea,* **78**:75-82.

BirdLife International. 2013. Species factsheet: *Ciconia boyciana*. Downloaded from http://www.birdlife.orgon 01/08/2013. Recommended citation for factsheets for more than one species: *BirdLife International* (2013) *IUCN Red List for birds*. Downloaded fromhttp://www.birdlife.orgon 01/08/2013.

Both C, Bouwhuis S, Lessells CM, Visser ME. 2006. Climate change and population declines in a long-distance migratory bird. *Nature,* **441**(7089):):81-83.

Bryant DM, Jones G. 1995. Morphological changes in a population of Sand *Martins Riparia riparia* associated with fluctuations in population size. *Bird Study,* **42**(1):57-65.

Chatterjee S, Price B. 1991. Regression Analysis by Example. 2nd ed. New York: Wiley, 186-197.

China Wildlife Propagation Institution for Protection. 1989. The Law of Wild Animal Protection of People's Republic of China. *In*: List of Wild Animals under National Protection. Beijing: China Legal Press. [中国野生动植物保护司. 1989. 中华人民共和国野生动物保护法. 见:国家重点保护野生动物名录. 北京:中国法制出版社.]

Cormont A, Vos CC, van Turnhout CA, Foppen RP, ter Braak CJ. 2012. Using life-history traits to explain bird population responses to increasing weather variability. *Climate Research,* **49**(1):59-71.

Crick HQP. 2004. The impact of climate change on birds. *Ibis,* **146**(Suppl.1):48-56.

Den Held JJ. 1981. Population changes in the Purple Heron in relation to drought in the wintering area. *Ardea,* **69**(2):185-191.

Hobbs NT. 1989. Linking energy balance to survival in mule deer: development and test of a simulation model. *In*: Wildlife Monographs. Bethesda, Md.: Wildlife Society, 3-39.

Jiang GL. 2013-06-28. District Administration banding Lake National Nature Reserve of the Oriental White Stork first appeared in Inner Mongolia. *State Forestry Administration, P. R. China*, http://www.forestry.gov.cn/portal/main/s/102/content-612185.html [蒋甘露. 2013-6-28. 黑龙江兴凯湖国家级自然保护区管理局环志的东方白鹳首次现身内蒙古. 中国林业网. http://www.forestry.gov.cn/portal/main/s/102/ content-612185.html]

Jones J, Doran PJ, Holmes RT. 2003. Climate and food synchronize regional forest bird abundances. *Ecology,* **84**(11):3024-3032.

Li FS, Liu GH, Wu JD. 2011. Ecological Study of Wetlands and Waterbirds at Poyang Lake. Beijing: Popular Science Press. [李凤山, 刘观华, 吴建东. 2011. 鄱阳湖湿地和水鸟的生态研究. 北京:科学普及出版社.]

Li YK, Shan JH, Ma JZ, Tu XB. 2014. The population trend and spatial distribution pattern of oriental white stork wintering in Poyang lakes. *Zoological Research,*（in press） [李言阔, 单继红, 马建章, 钱法文, 涂晓斌. 2014. 鄱阳湖区东方白鹳种群数量动态与空间分布格局. 动物学研究](待发表)

Li YK, Qian FW, Shan JH, Li J, Yuan FK, Miao LJ, Xie GY. 2013. The effect of climate change on the population fluctuation of the Siberian crane in Poyang Lake. *Acta Ecologica Sinica*. DOI:10.5846/stxb201304150715. [李言阔, 钱法文, 单继红, 李佳, 袁芳凯, 缪泸君, 谢光勇. 2013. 气候变化对鄱阳湖白鹤越冬种群数量变化的影响. 生态学报, DOI:10.5846/stxb201304150715.]

Liu CL, Tan YJ, Lin LS, Tao HN, Tan HR. 2011. The wetland water level process and habitat of migratory birds in Lake Poyang. *Journal of Lake Sciences,* **23**(1):129-135. [刘成林, 谭胤静, 林联盛, 陶海南, 谭晦如. 2011. 鄱阳湖水位变化对候鸟栖息地的影响. 湖泊科学, 23(1):):129-135.]

McKellar AE, Marra PP, Hannon SJ, Studds CE, Ratcliffe LM. 2012. Winter rainfall predicts phenology in widely separated populations of a migrant songbird. *Oecologia,* **172**(2):595-605.

Nilsson L. 1979. Variation in the production of young of swans wintering in Sweden. *Wildfowl*, **30**:129-134.

Newton I. 2004. Population limitation in migrants. *Ibis,* **146**(2):197-226.

Peach W, Baillie S, Underhill L. 1991. Survival of British Sedge Warblers *Acrocephalus schoenobaenus* in relation to west African rainfall. *Ibis,* **133**(3):300-305.

Schreiber RW, Schreiber EA. 1984. Central pacific seabirds and the El Niño-Southern Oscillation:1982-1983 perspectives. *Science,* **225**(4663):713-716.

Van Dijk AJ, de Roder FE, Marteijn ECL, Spiekman H. 1990. Summering waders on the Banc d'Arguin, Mauritania:a census in June 1988. *Ardea,* **78**:145-156.

Van den Bossche W, Berthold P, Darman Y, Andronov V, Parilov M, Querner U. 2001. Satellite-tracking helps to discover stopover sites of threatened Oriental white stork (*Ciconia boyciana*). *Microwave Telemetry,* **2**(1):3-4.

Wang XH. 2004. Wetland Ecosystem Assessment of Poyang Lakes. Beijing: Science Press. [王晓鸿. 2004. 鄱阳湖湿地生态系统评估. 北京:科学出版社.]

Wu JD, Ji WT, Yi WS. 2000. Notes on hibernation of *Ciconia boyciana* in Poyang Lake. *Sichuan Journal of Zoology,* **19**(5):):31-33. [吴建东, 纪伟涛, 易武生. 2000. 在鄱阳湖越冬的东方白鹳的一些资料. 四川动物, **19**(5):31-33.]

Wu YH, Ji WT. 2002. Study on Jiangxi Poyang Lake National Nature Reserve. Beijing: Chinese Forestry Press.[吴英豪, 纪伟涛. 2002. 江西鄱阳湖国家级自然保护区研究. 北京:中国林业出版社.]

Yalden DW, Pearce-Higgins JW. 1997. Density-dependence and winter weather as factors affecting the size of a population of golden plovers *Pluvialis apricaria*. *Bird Study,* **44**(2):227-234.

Yang DB, Zhang JH. 2000. The multicollinearity and handing. *Journal of Datong Medical College,*(2):):9-10. [杨德斌, 张继红. 2000. 多元回归中的多元共线性及其处理. 大同医学专科学校学报, (2):9-10.]

Yang M, Xiao J, Cai H. 2012. Multivariate analysis of multicollinearity and its processing method. *Chinese Journal of Health Statistics,* **29**(4):):620-624. [杨梅, 肖静, 蔡辉. 2012. 多元分析中的多重共线性及其处理方法. 中国卫生统计, **29**(4):620-624.]

Yu HJ. 2013-01-07. One oriental white stork was frozen by the ice in lake surface. *Jiangxi Daily*, http://jiangxi.jxnews.com.cn/system/2013/01/07/012240408.shtml [余红举. 2013-01-07. 湖面结冰东方白鹳被冻住了.大江网-江西日报. http://jiangxi.jxnews.com.cn/system/2013/01/07/012240408.shtml]

Zhu Q, Liu GH, Wu JD. 2012a. The annual report on nature resource monitoring of Poyang Lake National Nature Reserve in 2010. Shanghai: Fudan University Press. [朱奇, 刘观华, 吴建东. 2012a. 江西鄱阳湖国家级保护区自然资源2010年监测年报. 上海:复旦大学出版社]

Zhu Q, Zhan HH, Liu GH, Wu JD, Zhan HY, Huang YZ, Huang J, Zhang B, Hu BH, Li Y. 2012b. Investigation of Number and Distribution of the Waterfowl of Poyang Lake in the Winter of 2011. *Jiangxi Forestry Science and Technology,*(3):):1-9. [朱奇, 詹耀煌, 刘观华, 吴建东, 詹慧英, 黄元政, 黄江, 章斌, 胡斌华, 李跃. 2012. 2011年冬鄱阳湖水鸟数量与分布调查. 江西林业科技,(3):1-9.]

动 物 学 研 究 2013，Dec. 34(6): 556−563 CN 53-1040/Q ISSN 0254-5853
Zoological Research DOI:10.11813/j.issn.0254-5853.2013.6.0556

切断鸣管神经支对红嘴相思鸟鸣声的影响

吴 敏[#]，吕 源[#]，郑志强[#]，林桂霞，王怡淳，王松华，李东风[*]

华南师范大学 生命科学学院，广东省高等学校生态与环境科学重点实验室，广东 广州 510631

摘要：该研究以红嘴相思鸟（*Leiothrix lutea*）为材料，分析对其鸣管神经支（NXIIts）进行断单侧和断双侧处理后的鸣声声学变化，探讨鸣管神经支配特性。结果表明，断单侧 NXIIts 后红嘴相思鸟均可发出常见叫声，但鸣声音节间隔拉长，音节时程缩短，调频指数下降，且断左侧 NXIIts 的作用效果明显大于断右侧 NXIIts。即 NXIIts 支配具单侧性，且呈左侧优势，此外，左侧 NXIIts 还具有产生音节高频成分和谐波的作用。断双侧 NXIIts 后，红嘴相思鸟鸣声音调唯一，响度大幅下降，音节脉冲数增加。

关键词：红嘴相思鸟；鸣管神经支；鸣声；侧别优势

中图分类号：Q62 **文献标志码**：A **文章编号**：0254-5853-(2013)06-0556-08

Effects of syringeal denervation on the vocalization in red-billed Leiothrix (*Leiothrix lutea*)

Min WU, Yuan LV, Zhi-Qiang ZHENG, Gui-Xia LIN, Yi-Chun WANG, Song-Hua WANG, Dong-Feng LI[*]

The Key Laboratory of Ecology and Environmental Science in Higher Education of Guangdong Province, School of Life Sciences, South China Normal University, Guangzhou 510631*, China*

Abstract: In this study, the unilateral and bilateral syrinx nerve (NXIIts) were resected in the red-billed Leiothrix (*Leiothrix lutea*) to assess the roles of NXIIts in vocalization. Wavesurfer and Sound Analysis Pro were used to analyze pre- and postsurgical acoustic changes. After resecting of unilateral NXIIts, red-billed Leiothrix produced the common calls with lengthened syllable interval, shortened duration and a declined FM index. The effects of left NXIIts resction on temporal and spectral characteristics of syllables were more significant than that of right NXIIts. These results indicated that the neural control of NXIIts was unilateral and left-side dominated. Moreover, the left NXIIts could produce high frequency components and harmonic waves. After resecting of bilateral NXIIts, the calls were characterized by monotone, reduced loudness and increased syllable pulse numbers.

Keywords: *Leiothrix lutea*; NXIIts; Vocalization; Lateralization

发声是鸟类重要的信息交流手段。鸣禽具有最强的发声交流能力，鸣曲类型丰富多样，鸣声也最为婉转动听，并因其鸣唱学习与人类的语言学习十分相似而成为研究动物发声通讯的重要模型（Li, 2001）。

人的语言中枢具有左侧优势。在大多数鸣禽的发声中枢中，也存在左侧优势现象。Zhao et al（2003）发现鸣禽栗鹀（*Emberiza rutila Pallas*）高级发声中枢和中脑对叫声的调控存在明显的左侧优势。Okanoya et al (2001)发现雄性白腰文鸟（*Lonchura striata domestica*）左侧高级发声中枢（high vocal center, HVC）在发声控制及鸣声辨别中均起主导作用。然而，Williams et al (1992)及Zeng & Li (2013)对雄性斑胸草雀（*Taeniopygia guttata*）进行单侧损毁核团及单侧去神经支配实验，发现雄性斑胸草雀的HVC、弓状皮质栎核（robust nucleus of the arcopallium, RA）及丘间复合体背内侧核（dorsomedial nucleus of the intercollicular, DM）在鸣声控制上具右侧优势。

收稿日期：2013-07-23；接受日期：2013-10-01

基金项目：国家自然科学基金（31172092）；2012 年华南师范大学大学生创新性实验项目

[*]通信作者（Corresponding author），E-mail: dfliswx@126.com

[#]共同第一作者（Authors contributed equally to this work）

由于高级中枢控制发声的侧别差异性，低级中枢（nXIIts）发出的外周神经（NXIIts）对发声器官的支配也存在侧别差异。研究者们通过单侧去鸣管神经支配实验发现，大多数鸣禽，如金丝雀（*Serinus canarius*）(Nottebohm et al, 1976)、爪哇禾雀(*Padda oryzivora*) (Seller，1979)、金翅雀(*Carduelis sinica*) (Li et al, 1999)和白腰文鸟（*Lonchura striata domestica*）(Secora et al, 2012)等，其NXIIts对发声器官的支配功能均呈左侧优势。

红嘴相思鸟（*Leiothrix luteal*）属雀形目画眉科相思鸟属，鸣声婉转动听，是驰名国内外的观赏鸟。目前对其鸣声的研究仅有国内一篇报道（Liao et al, 2006），且仅涉及基本鸣声类型。本实验利用声谱分析法，对红嘴相思鸟断NXIIts前、后鸣声进行比较分析，首次对该物种进行鸣管神经支配功能研究，为鸣禽发声调控机制提供声学依据。

1　材料与方法

1.1　实验对象

健康成年雄性红嘴相思鸟12只，大于90 日龄，购于广州花地湾花鸟虫鱼市场，饲养于笼内，自然采光，14:10 h 明/暗交替，喂食谷物，室温 25~30 ℃，相对湿度 60%~80%，单只笼养一周后进行实验。实验动物使用符合国家和学校动物伦理委员会规定并遵守国际惯例。

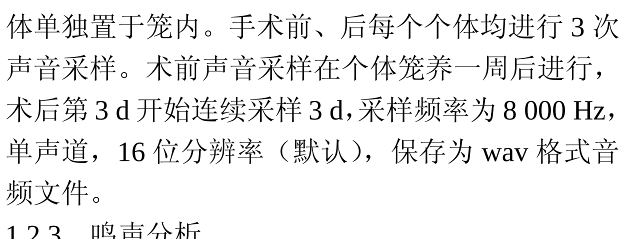
1.2　实验方法

1.2.1　NXIIts 切断术

在红嘴相思鸟个体的胸大肌注射~0.05 mL 10%水合氯醛（chloral hydrate，Sigma, 47335-U）进行轻度麻醉，固定于手术台上；剪去颈羽，切开皮肤，用玻璃分针在气管侧面分离出鸣管神经支（NXIIts），剪去~0.5 cm；缝合皮肤。

1.2.2　鸣声录制

使用 DVR556 Recorder 录音笔记录手术前、后的鸟鸣声，麦克风距离鸟笼~20 cm。进行录音的个体单独置于笼内。手术前、后每个个体均进行 3 次声音采样。术前声音采样在个体笼养一周后进行，术后第 3 d 开始连续采样 3 d，采样频率为 8 000 Hz，单声道，16 位分辨率（默认），保存为 wav 格式音频文件。



1.2.3　鸣声分析

鸣禽鸣声主要有两大声学特征：时域特征和频域特征。将采集到的声音文件用计算机软件进行处理和分析。用 Wavesurfer 软件制作原始波形图（waveform）、语图（sonogram）和功率频谱（能量）图(power spectrum)，读出基频(fundamental frequency, FF)、音节间隔（syllable interval，SI）、脉冲个数（pulse number, PN）、基本音（basic sound, BS）、谐波（harmonic wave，HW）等参数值，分析鸣声的时域特征。用 SAP 软件进行语图分析，读出音节时程（syllable duration, SD）、音调（pitch）、主峰频率（peak frequency, PF）、调频（frequency modulation FM）、振幅（amplitude, Amp）、熵（entropy）、音质（goodness）等参数值，对断神经前、后鸣声进行对比分析。

将声谱分析得到的实验数据导入 Origin 软件进行统计分析，并绘制柱形图。数值用 mean±*SEM* 表示，*t*-test 计算差异显著性，*P*<0.05 为显著性差异，*P*<0.01 为极显著差异。

2　结　果

2.1　红嘴相思鸟正常鸣声结构

红嘴相思鸟鸣声响亮，擅长长鸣（long call），即连续发出多声鸣叫。鸣声以音节（syllable）为基本结构。鸣声类型分为单鸣声、双鸣声和多鸣声，分别包含单个、两个和多个音节，并以脉冲（pulse）为基本单位（图 1）。正常状态下，红嘴相思鸟多以单鸣声和多鸣声进行同伴间的联系和交流。

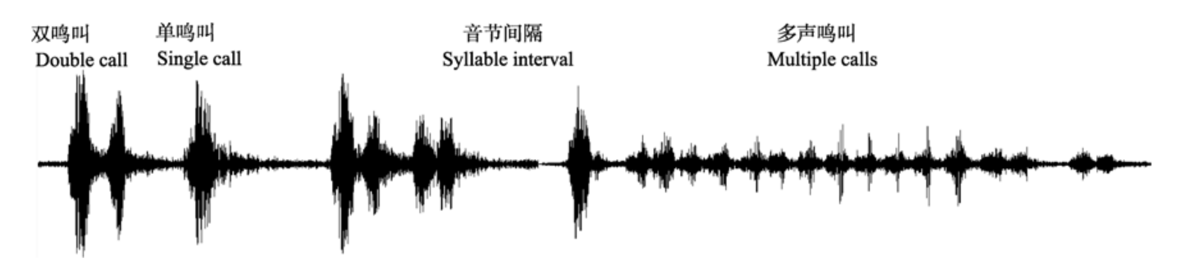


图 1　红嘴相思鸟常见鸣声脉冲图
Figure 1　Vocalization waveform of *Leiothrix luteal*

2.2 断单侧 NXIIts 对红嘴相思鸟鸣声的影响

2.2.1 断单侧 NXIIts 对单鸣声的影响

图 2 显示红嘴相思鸟正常状态和断 NXIIts 后单鸣声的时间波形图（图 2A）、语图（图 2B）和功率谱图 （图 2C），图 3A-F 则为相应状态下鸣声参数的统计及对比分析。

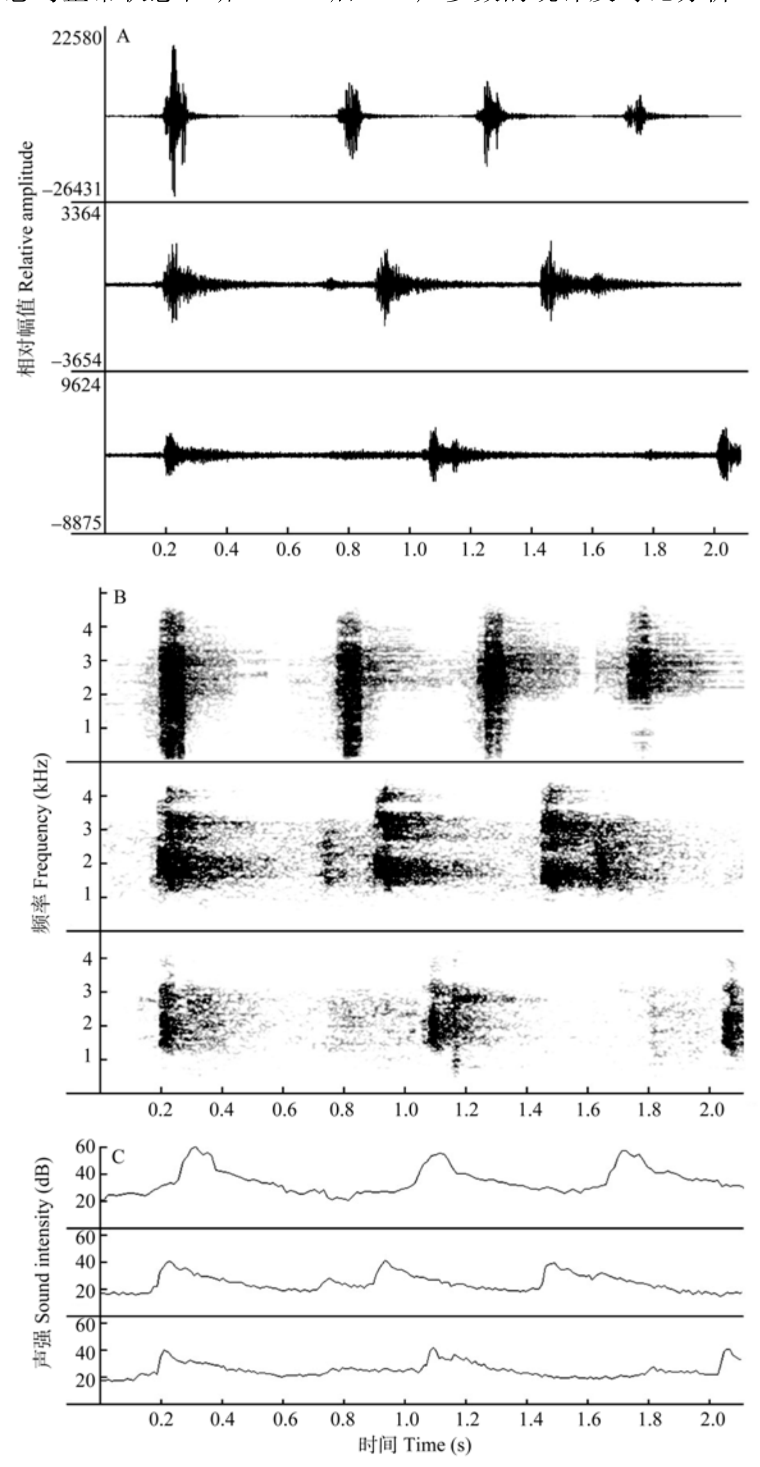


图 2 断单侧 NXIIts 前、后红嘴相思鸟单鸣声比较

Figure 2 Single call comparison of unilateral resected NXIIts

A：正常与断一侧神经的波形图；B：正常与断一侧神经的语图；C：正常与断一侧神经的功率谱图；A，B，C 图中自上而下分别为正常、断右侧神经及断左侧神经组。

A: Waveform of normal and one-side resected NXIIts; B: Sonogram of normal and one-side resected NXIIts; C: Power spectrum of normal and one-side resected NXIIts; In A, B, C, from top to down, each panel shows normal, right resected and left resected NXIIts, respectively.

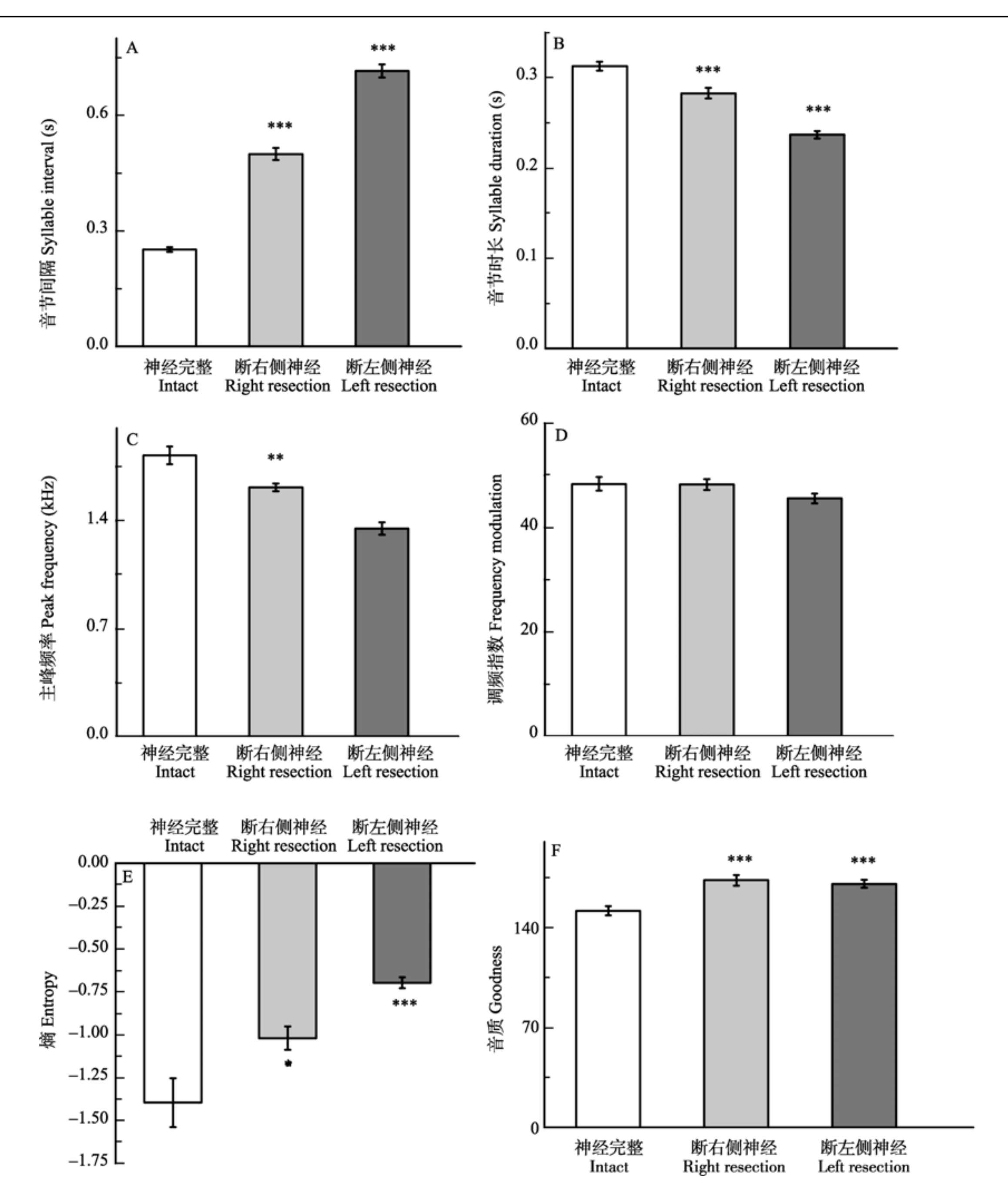


图 3　断单侧 NXIIts 前、后单鸣声各声学参数统计结果比较（n=20）

Figure3 Acoustic parameters of single call before and after unilateral resection of NXIIts

A：音节间隔；B：音节时程；C：主峰频率；D：频率调制；E：熵；F：音质。

A: SI; B: SD; C: PF; D: FM; E: Entropy; F: Goodness.*: $P<0.05$; **: $P<0.01$;***: $P<0.001$.

红嘴相思鸟断单侧NXIIts后鸣声音节间隔（SI）明显变长（图 2），与术前差异显著（3B, C），断左侧和右侧 NXIIts 分别使鸣声 SD 缩短~10%和 24%（图 3）。即，断左侧 NXIIts 对 SI 和 SD 的影响更加显著，NXIIts 对鸣声的时域控制具左侧优势。

正常情况下，红嘴相思鸟鸣声单调，以基本音（BS）为主，频率范围为 2.50~3.80 kHz，主峰频率（PF）为（1.82±0.06） kHz。切断任何一侧 NXIIts 后，鸣声响度及能量均呈下降趋势。断右侧 NXIIts 后，BS 频率范围下移，集中在 1.80~2.50 kHz，PF 为（1.62±0.03） kHz，较术前降低~200 Hz，调频指数（FM）变化不显著。断左侧 NXIIts 后，BS 频率为 1.80~3.00 kHz，出现小幅度失稳，PF 大幅度下降（P<0.01），为（1.35±0.04） kHz，调频指数（FM）

明显降低（$P<0.05$），熵（entropy）由术前的–1.40±0.14 上升至–0.70±0.03（$P<0.01$）。断右侧和断左侧神经均使音质（goodness）得到提高（图 3）。

2.2.2 断单侧 NXIIts 对双鸣声的影响

红嘴相思鸟双鸣声发出前常伴有一个单鸣声，正常状态下，两者时间间隔较长，断单侧神经后，间隔缩短，但两实验组间无明显差异（图 4A）。

断右侧 NXIIts 后，双鸣声频带出现明显的上升支和下降支，呈单变调声，且音节谐波（harmonic wave，HW）成分明显，鸣声音调（pitch）升高（图 4B）。断左侧 NXIIts 后，前导的单音节以及双鸣声中的音节脉冲数（PN）均增加，由术前的单脉冲结构变为双脉冲或多脉冲结构，且双鸣声极弱（图 4C）。

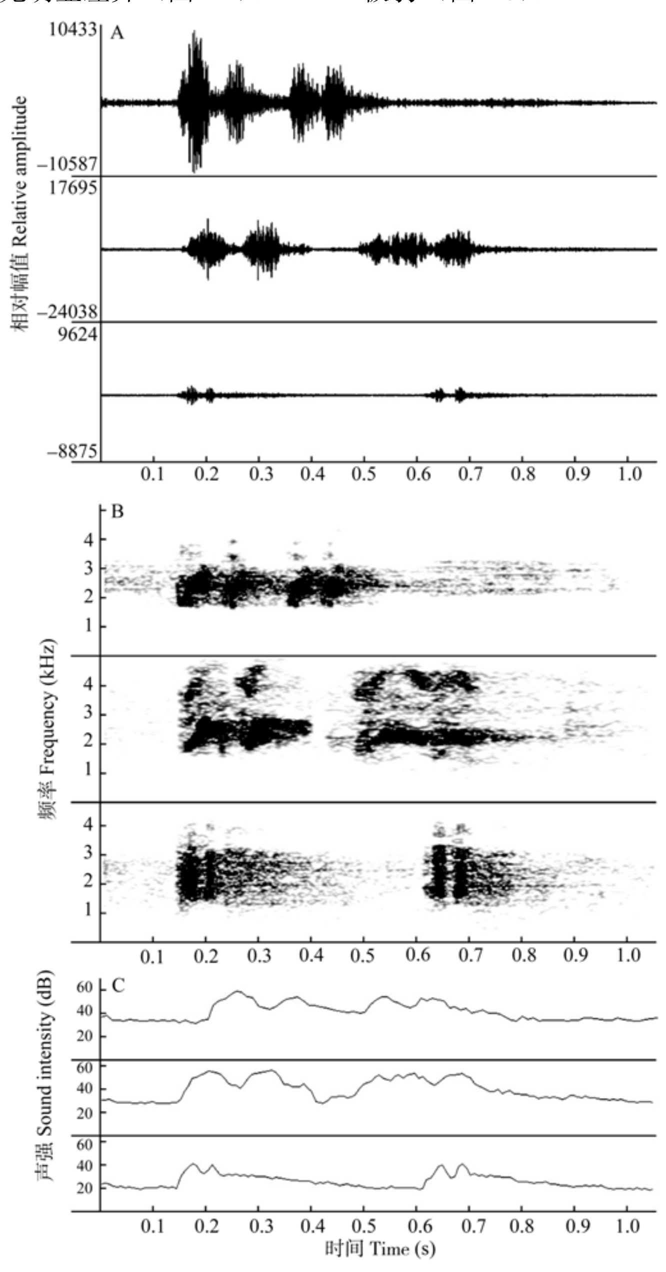


图 4 断单侧 NXIIts 前、后双鸣声比较

Figure 4 Double call comparison of unilateral resected NXIIts

A：正常与断一侧神经的波形图；B：正常与断一侧神经的语图；C：正常与断一侧神经的功率谱图；A，B，C 图中自上而下分别为正常，断右侧神经及断左侧神经组。

A: Waveform of normal and one-side resected NXIIts; B: Sonogram of normal and one-side resected NXIIts; C: Power spectrum of normal and one-side resected NXIIts; In A, B, C, from top to down, each panel shows normal, right resected and left resected NXIIts, respectively.

2.2.3　断单侧 NXIIts 对多鸣声的影响

红嘴相思鸟多脉冲长鸣声的响度大，可持续 3 s 以上，包含 30 个以上的音节及重复频率。各脉冲持续时间大致相等，振幅基本相持，能量分布均匀，基频（FF）之上有模糊的谐波（HW）结构（图 5A, B）。

断右侧 NXIIts 后，长鸣声依然响亮，音节数变化不显著，单个音节在基频之上可见明显的谐波结构（图 5B）。断左侧 NXIIts 后，长鸣声出现频率明显降低，基本音（BS）频带变窄，声强下降，音节数减少 35%~50%。鸣叫能力明显下降（图 5C）。

2.3　断双侧 NXIIts 对鸣声的影响

红嘴相思鸟断双侧 NXIIts 后，音节数减少（≤3 个），音节间隔不等（图 6）。每个音节均由 2~5 个脉冲构成，各脉冲相似，频率范围为(7.81~

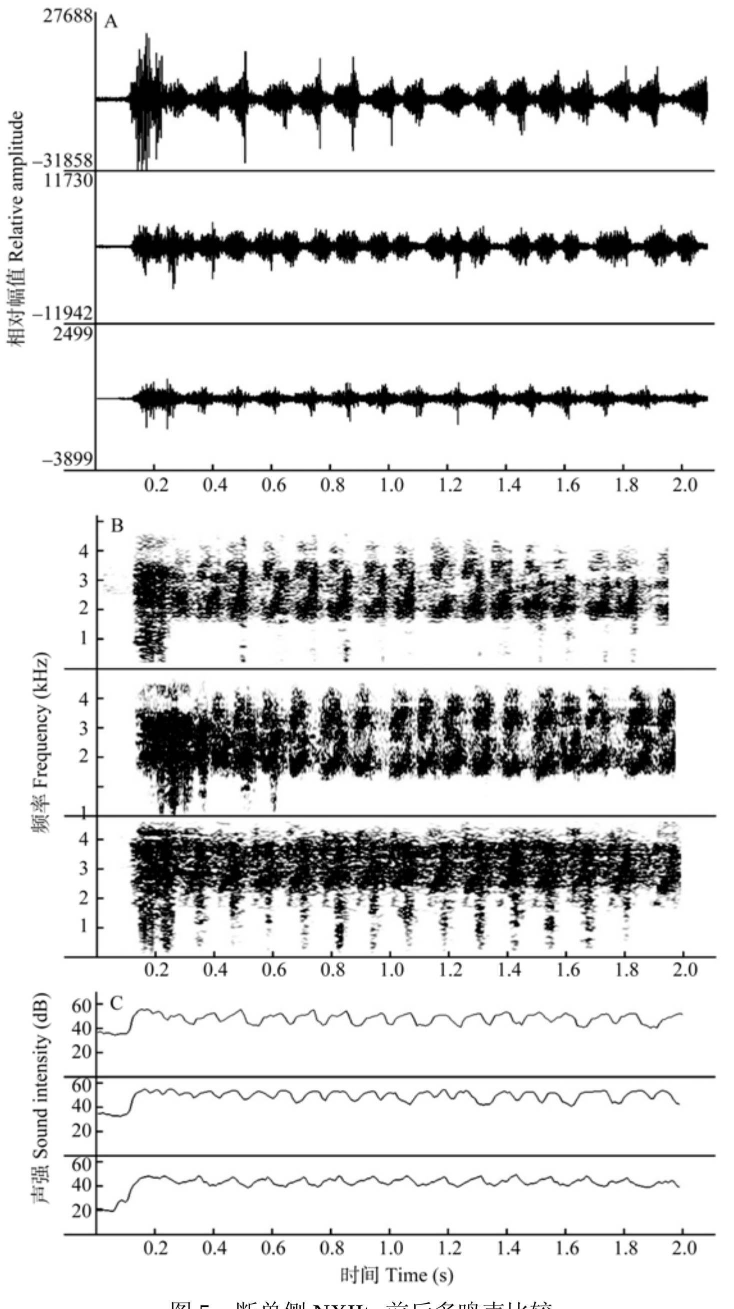


图 5　断单侧 NXIIts 前后多鸣声比较

Figure 5　Multiple calls comparison of unilateral resected NXIIts

A：正常与断一侧神经的波形图；B：正常与断一侧神经的语图；C：正常与断一侧神经的功率谱图；A，B，C 图中自上而下分别为正常，断右侧神经及断左侧神经组。

A: Waveform of normal and one-side resected NXIIts; B: Sonogram of normal and one-side resected NXIIts; C:Power spectrum of normal and one-side resected NXIIts; In A, B, C, from top to down, each panel shows normal, right resected and left resected NXIIts, respectively.

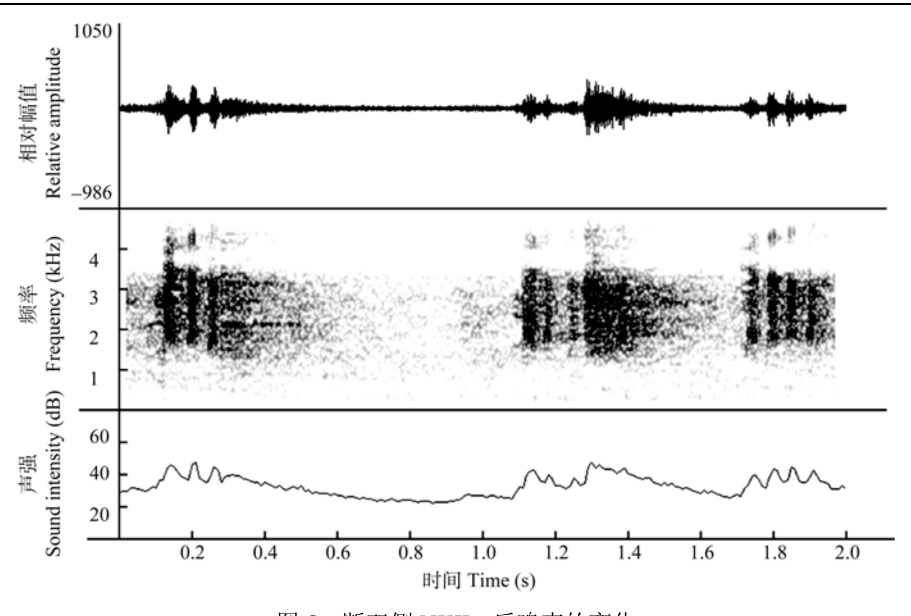


图 6 断双侧 NXIIts 后鸣声的变化
Figure 6 Call of bilateral resected NXIIts

3992.20）Hz，音节振幅为（34.03±0.44） dB，主峰频率（PF）为（2.85±0.01）kHz。频率调制成分消失。

3 讨 论

鸣禽通过鸣管左、右两侧鸣肌运动调控鸣膜振动而发声，而鸣肌受控于同侧舌下神经气管鸣管支（NXIIts）。因此，切断 NXIIts 会影响鸣声的产生及其音节特性（Seller et al, 1979; Liao & Li, 2012; Pan et al, 2004）。

正常情况下，红嘴相思鸟鸣叫时气流冲击量较大，鸣声响亮，为以基本音为主的单调叫声，熵值较低，且音节主要由一致性较高的单脉冲构成，振幅大，音调高。研究发现，任何一侧 NXIIts 被切断的红嘴相思鸟均可发出常见鸣声，验证了“双声源理论”，即两侧鸣管均可独立发声，NXIIts 对鸣肌的支配具有单侧性（Suthers, 1997）。断单侧 NXIIts 对红嘴相思鸟鸣声的时域特征和频域特征均具一定影响，这与每侧神经所支配的鸣肌收缩呼吸动力学特性有关（Geng et al,2005）。断单侧 NXIIts 对鸣声时域特性的影响主要体现在音节间隔和音节时程上。断任何一侧 NXIIts 均可明显延长鸣声音节间隔，并缩短音节时程，且断左侧 NXIIts 的作用效果更为明显，即 NXIIts 的鸣声时域控制具左侧优势。

在鸣声频率调制方面，断单侧 NXIIts 可引起单鸣声多项频率参数如音调、基本音、主峰频率和谐频等的变化，且断左侧 NXIIts 作用效果显著高于断右侧。断左侧 NXIIts 后，基本音明显失稳，音调稳定性下降，熵上升～50%，音节高频成分丢失，主频大幅度下降，调频指数显著降低。即左侧 NXIIts 对单鸣声频率调制的影响更为显著，且对单鸣声高频成分的控制具主导作用。

去单侧神经支配后，由于鸣声中携带的气流冲击量减少，声强降低，声音频带更为清晰，故音质参数增大。并且，由鸣声语图可见，断右侧神经后谐波数量增加，即鸣声中含有更多的谐音成分，鸣声和谐程度增大，音质得到更大程度的提高。据此推断，红嘴相思鸟左、右两侧 NXIIts 对鸣声谐波调节具有拮抗作用，左侧 NXIIts 调节谐波的产生，而右侧 NXIIts 则抑制鸣声谐波的产生。该结果与 Secora et al（2009）的研究结果相似，即断左侧神经后，白腰文鸟鸣声为强音、高频率及低熵，而断右侧神经后，则为低幅、低频及较高熵。本研究中红嘴相思鸟鸣声熵值变化与白腰文鸟相反，可能是种间差异所致。

断右侧 NXIIts 除增加谐波（HW）数量外，还产生了音调多变且快速调频特性增加的新的多鸣声。而断左侧 NXIIts 后，多鸣声较少出现，音节个数少于断右侧，且音调唯一。据此推断，红嘴相思鸟的鸣声频率调制主要由左侧 NXIIts 控制。断右侧 NXIIts 解除了右侧 NXIIts 对和谐鸣声的抑制，左侧 NXIIts 发挥更大的调控作用，快速调频进一步加快，

从而使鸣声音调起伏增大。

断左侧 NXIIts 后，鸣声时域控制和调频能力明显下降，基本音失稳，音节高频缺失，断右侧 NXIIts 后，左侧 NXIIts 的调控作用增强，音节谐波数量增加，双鸣声及多鸣声出现变调音节。因此，左侧 NXIIts 在鸣声时频调控上起主导作用，这与 Wild et al（2000）对于金丝雀的工作吻合，说明呼吸与发声的协调整合，由 RA 下行投射到延髓舌下神经气管鸣管亚核（nXIIts, 司发声）和后疑核（nRAm, 司呼吸），再通过 NXIIts 支配鸣肌。

断双侧 NXIIt 后鸣声音调唯一，每个音节均由两个以上脉冲组成。红嘴相思鸟正常鸣声中气流冲击量较大，两侧 NXIIts 均被切断后，鸣肌失去神经支配，鸣声发出主要依靠呼吸运动呼出的气流振动鸣膜产生，鸣声响度大幅度降低，音节时程短，故只能通过增加音节的脉冲数，维持或延长原有的音节时程。

参考文献：

Geng H, Li DF, Jiang JC. 2005. Avian vocal organ and vocal control mechanism. *Acta Biophysica Sinica,* **21**(6): 397-403. [耿慧，李东风，蒋锦昌. 2005. 鸟类的发声器官及其调控机制. 生物物理学报，**21**(6): 397-403.]

Li DF. 2001. The Neural mechanism of vocal learning and memory in songbirds. *Natural Science Progress,* **11**(3): 225-231. [李东风. 2001. 鸣禽发声学习记忆的神经机制. 自然科学进展, **11**(3): 225-231.]

Li DF, Jiang JC, Li J, Yang XY, Wang DW, Chen H. 1999. Effect of tracheosyringeal denervation on call in greenfinch (*Carduelis sinica*). *Science in China (Series C),* **42**(6): 561-569.

Liao CS, Li DF. 2012. Effect of vocal nerve section on song and ZENK protein expression in Area X in adult male zebra finches. *Neural Plasticity,* 2012, Article ID 902510, 7, doi: 10.1155/2012/902510.

Liao WB, Li C, Chen SY, Hu JC, Liu CZ, Jia YW. 2006. Basic call of *Leiothrix luteal* in Sichuan Laojunshan nature reserve. *Sichuan Journal of Zoology,* **25**(4): 710-712. [廖文波，李操，陈守云，胡锦矗，刘朝中，贾延文. 2006. 红嘴相思鸟鸣声的初步探讨. 四川动物，**25**(4): 710-712.]

Nottebohm F, Stockes F, Leonard CM. 1976. Central control of song in the canary, *Serinus canarius*. *Journal of Comparative Neurology,* **165**(4): 457-486.

Okanoya K, Ikebuchi M, Uno H, Watanabe S. 2001. Left-side dominance for song discrimination in Bengalese finches (*Lonchura striata* var. *domestica*). *Animal Cognition*, **4**(3-4): 241–245.

Pan HH, Xiao P, Li DF. 2004. The function of the avian vocal organ in birdsong. *Life Science Research,* **8**(4): 108-112. [潘鸿辉，肖鹏，李东风.2004. 鸣禽发声器官在鸣啭过程中的功能. 生命科学研究，**8**(4): 108-112.]

Secora KR, Peterson JR, Urbano CM, Chung B, Okanoya K, Cooper BG. 2012. Syringeal Specialization of Frequency Control during Song Production in the Bengalese Finch (*Lonchura striata domestica*). *PLoS ONE,* **7**(3): e34135.

Seller TJ. 1979. Unilateral nervous control of the syrinx in Java Sparrows (*Padda oryzivora*). *Journal of Comparative Physiology,* **129**(3): 281-288.

Suthers RA. 1997. Peripheral control and lateralization of birdsong. *Journal of Neurobiology,* **33**(5): 632-652.

Wild JM, Williams N, Suthers RA. 2000. Neural pathways for bilateral vocal control in songbirds. *Journal of Comparative Neurology,* **423**(3): 413–426.

Williams H, Crane LA, Hale TK, Esposito MA, Nottebohm F. 1992. Right-side dominance for song control in the zebra finch. *Journal of Neurobiology,* **23**(8): 1006-1020.

Zeng XY, Li DF. 2013. Lateral differences in the forebrain and midbrain control of learned vocalizations in adult male Zebra Finch (*Taeniopygia guttata*). *Zoological Research,* **34**(1): 1-7. [曾贤燕，李东风. 2013. 成年雄性斑胸草雀前脑与中脑对习得性发声控制的侧别差异. 动物学研究，**34**(1): 1-7.]

Zhao J, Jiang JC, Li DF. 2003. Control pattern of vocal center for vocalization in ruddy bunting (*Emberiza rutila*). *Science in China Series C: Life Sciences,* **46**(6): 615-622.

动 物 学 研 究 2013，Dec. 34(6): 564−573 CN 53-1040/Q ISSN 0254-5853
Zoological Research DOI:10.11813/j.issn.0254-5853.2013.6.0564

通过光谱与视觉模型研究动物体色

杨灿朝，梁 伟*

海南师范大学 生命科学学院，热带动植物生态学省部共建教育部重点实验室，海口 571158

摘要：体色是动物进行种内和种间信息交流的重要性状特征。与人类的三基色视觉系统不同，许多动物都具有四面体颜色系统，包括人眼无法探测的紫外光区域。动物体色是动物生态学中的一项重要研究内容，以人类主观角度对动物体色进行描述和分类，可能会导致研究结果的偏差，甚至得出错误结论。该文以赤红山椒鸟（*Pericrocotus flammeus*）为实例，通过分段光谱分析，对动物体色的色调、色度、亮度以及各波段的亮度进行量化；通过构建先进的动物视觉模型以考虑环境光线的影响和动物视网膜对不同波段光线的敏感度和捕获能力，同时将颜色斑块直观投射在四面体颜色空间和罗宾逊投影中，以量化颜色跨度和空间容量等参数，真正实现从动物的视觉角度分析动物体色。

关键词：光纤光谱仪；赤红山椒鸟；四面体颜色空间；罗宾逊投影；视觉模型；紫外光
中图分类号：Q958.1 **文献标志码**：A **文章编号**：0254-5853-(2013)06-0564-10

Using spectra and visual modeling to study animal coloration

Can-Chao YANG, Wei LIANG *

Ministry of Education Key Laboratory for Tropical Plant and Animal Ecology, College of Life Sciences, Hainan Normal University, Haikou 571158, *China*

Abstract: Animal coloration has many adaptive functions and plays an important role in signal communication both among intra- and interspecies. For example, it has been widely used in mate choice, intrasexual competition, and as aposematic or cryptic coloration in predator avoidance. Many colors and pigments also function in microbial resistance, structural support, photoprotection, and thermoregulation. Differing from human vision, based on RGB system, many other animals have tetrachromatic vision system, which includes the ultraviolet (UV) range that is undetectable by human eyes. Previous studies showed that ultraviolet is important in some species' social signaling and communication. Moreover, cone inner segments of most classes of vertebrate contain an oil droplet, which acts as a cut-off filter absorbing wavelengths below a critical value, and transmitting longer wavelengths. Animal and human vision is significantly different in that the classification of color by human standards may be a misleading for measuring animal coloration. Here, we illuminate how to use fiber spectrophotometer to quantify animal coloration, and analyze it by spectra analysis and visual modeling. As an example, we obtained plumage reflectance spectra from male and female scarlet minivets (*Pericrocotus flammeus*). This bird species is sexually dimorphic that the males have plumage color in black and red, while the females have grey and yellow accordingly. These plumage colors are typically generated from melanin and carotenoid pigments, which have an effect on antioxidant activity. Analysis of spectra segments provides hue, chroma, brightness and relative brightness of each wave range. Visual modeling maps color patches on tetrahedral color space and Robinson projection, meanwhile, calculates color span and color space volume which describe the color contrast and color diversity, respectively. In visual modeling, ambient light irradiance and spectral sensitivity of animal retinas are included, which provides an objective evaluation of coloration of animal vision.

Keywords: Fiber spectrophotometer; *Pericrocotus flammeus*; Tetrahedral color space; Robinson projection; Visual modeling; Ultraviolet

体色是动物的一种重要性状特征。其包含的色素和纳米结构具有很多适应性功能，这主要体现在动物种内的信号交流，如配偶选择和同性竞争（Hill & McGraw, 2006; Protas & Patel, 2008; Safran & McGraw, 2004），以及种间的信息传递，如警戒色和隐蔽色（Hill & McGraw, 2006; Protas & Patel, 2008; Slagsvold et al, 1995）。在许多啮齿目（Rodentia）动物中，体色往往会与生境颜色相匹

收稿日期：2013-05-07；接受日期：2013-08-26
基金项目：国家自然科学基金（31071938，31260514, 31272328）；教育部科学技术研究重点项目（212136）；海南省创新引进集成专项科技合作项目（KJHZ2013-12）
*通信作者 Corresponding author. E-mail: liangwei@hainnu.edu.cn

配，以降低被捕食者发现的风险（Linnen et al, 2009; Nachman et al, 2003; Steiner et al, 2009）。箭毒蛙科（Dendrobatidae）的两栖类体色鲜艳但含有毒液，是一种熟知的警戒色，其体色鲜艳程度与毒性相关（Darst et al, 2006）。体色在鸟类（Aves）中具有重要适应意义，许多鸟类具有明显的性别二态型，雄鸟不但具有鲜艳的羽色，还进化出各种炫耀行为，以向雌鸟充分展示（Hill & McGraw, 2006）。自达尔文时代以来，鸟类羽色成为检验性选择理论的重要模式对象（Darwin, 1871; Andersson, 1994）。鸟类还产各种颜色和斑纹的卵，在反捕食、防止巢寄生和调节胚胎温度等方面具有重要适应意义（Kilner, 2006; Yang et al, 2010b）。昆虫（Insecta）也具有各种体色，而且往往与其栖息生境非常相似，以躲避捕食者的捕食。许多蝴蝶在翅膀上具有不同颜色斑纹的眼斑，有利于在飞行过程中震慑捕食者，从而降低被捕食率（Lyytinen et al, 2003）。此外，动物的体色还具有保护皮肤（Hill & McGraw, 2006; Protas, 2008）、增强结构支撑力（Hill & McGraw, 2006）、抵抗细菌和疾病（Goldstein et al, 2004)以及调节温度（Protas, 2008; Rosenblum et al, 2004)等功能。

研究动物的体色是动物生态学中的一项重要内容。以往研究大多从人类的主观角度对动物体色进行描述和分类，这样可能会导致研究结果的偏差，甚至得出错误的结论（Bennett et al, 1997）。首先，靠人类自定的标准，难以对动物体色进行客观量化；其次，许多动物的视觉系统与人类有很大差异。越来越多的研究表明许多脊椎动物都具有四面体颜色视觉，包括人眼无法探测的紫外光（Honkavaara et al, 2002, 2008; Ventura et al, 1999），这包括绝大部分的鸟类（Bennett & Cuthill, 1994）、许多鱼类[如金鱼（*Garassius auratus*）、孔雀鱼（*Poecilia reticulate*）和多种珊瑚礁鱼类]（Archer & Lythgoe, 1990; Bowmaker et al, 1991; McFarland & Loew, 1994）和爬行类[少数两栖动物如虎螈（*Ambystoma tigrinum*）和多种蜥蜴和龟类]（Bowmaker, 1998; Fleishman et al, 1993; Perry & McNaughton, 1991; Tovée, 1995）、极少数哺乳动物（啮齿类）（Jacobs, 1992; Jacobs & Deegan, 1994），近年来甚至发现一些无脊椎动物（蝴蝶）也具有四面体颜色视觉（Koshitaka et al, 2008）。所以在人类看来同样的颜色，在其他动物看来未必如此，反之亦然。从达尔文时代开始，人们一直寻求有效的科学方法对动物颜色进行分析，最早期人们只对颜色进行描述，计算机的出现使人们可以利用电子图片和图像处理软件对颜色进行量化（Villafuerte & Negro, 1998）。然而这些都是基于人眼为标准，光纤光谱仪的出现实现对不同波段的颜色光谱进行精细量化，包括人眼无法探测的紫外光（Cuthill et al, 2000）。由于不同动物对不同波段的光谱敏感程度不一，近年来基于光谱分析发展的视觉模型是迄今为止最科学和客观的颜色分析方法（Endler & Mielke, 2005）。目前光谱分析和视觉模型主要应用于脊椎动物，特别是鸟类方面的研究。在人眼看来，有些鸟类明显为雌雄异型，而有些则为雌雄同型，然而，利用光谱分析表明许多在人眼看来为雌雄同型的种类，其实为雌雄异型，而且在性选择中许多种类的雌鸟利用紫外光反射强度来评价雄鸟的质量（Hunt et al, 1998; Mahler & Kempenaers, 2002; Mays et al, 2004; Macías-Sánchez et al, 2013）；Yang et al（2013）利用光谱分析和紫外反射光控制实验，揭示两种鹪莺（*Prinia flaviventris* 和 *P. inornata*）利用紫外反射光识别自身的卵色；剑尾鱼属（*Xiphophorus*）的鱼类利用紫外信号进行交流，以避开捕食者墨西哥丽脂鲤（*Astyanax mexicanus*），后者对紫外信号不敏感；Spottiswoode & Stevens（2010）利用视觉模型揭示了寄生织雀（*Anomalospiza imberbis*）的宿主褐头鹪莺（*P. subflava*）利用多种视觉信号识别寄生卵。

本文以赤红山椒鸟（*Pericrocotus flammeus*）为实例，阐述如何利用光纤光谱仪对动物的体色进行量化和分析，以及如何构建迄今最先进的动物视觉模型，对动物的体色进行定量研究。赤红山椒鸟属鸟纲雀形目（Passeriformes）山椒鸟科（Campephagidae），为雌、雄性别二态型鸟类（MacKinnon & Phillipps, 1999)。雄鸟羽毛以黑色和红色为主，而雌鸟则以灰色和黄色为主（图 1)。山椒鸟的羽毛色素是典型的黑色素和类胡萝卜素，也是许多动物产生颜色的主要色素。脊椎动物主要通过摄取食物来进行色素合成（Hill & McGraw, 2006），所以颜色的程度能体现动物的捕食能力；黑色素和类胡萝卜素又是重要的生物抗氧化剂，是决定机体免疫系统和抵抗疾病的重要成分（Alonso-Alvarez et al, 2004; Burton, 1989; Hoekstra, 2006），因此有假说认为动物展示鲜艳的体色与抵抗疾病之间具有权衡性，因为将越多的色素用于抵

抗疾病，能用于展示鲜艳体色的色素就越少；相反，投入越多的色素用于展示体色，则越影响自身的免疫能力（Jawor & Breitwisch, 2003; Peters, 2007）。

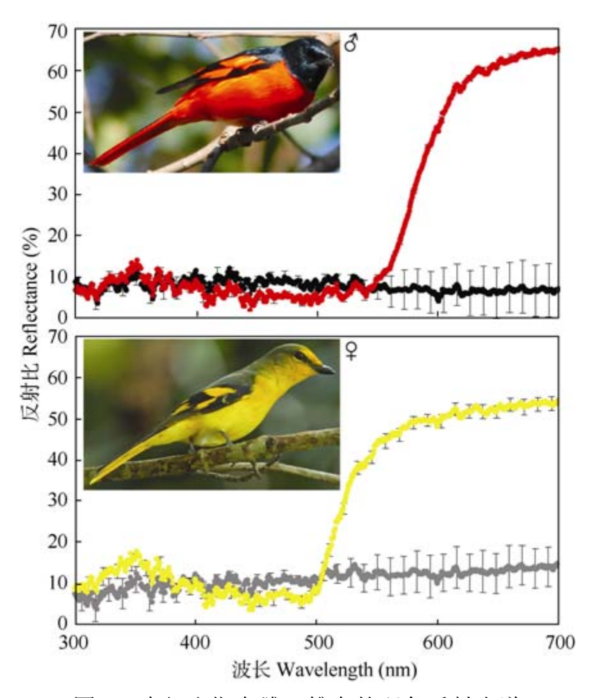


图 1 赤红山椒鸟雌、雄鸟的羽色反射光谱

Figure 1 Plumage reflectance of male and female scarlet minivets (*Pericrocotus flammeus*)

红色和黑色曲线分别代表雄鸟红色和黑色羽，黄色和灰色曲线分别代表雌鸟黄色和黑色羽。雄鸟和雌鸟相片分别由廖晓东和田穗兴拍摄。

Red and black curves refer to red and black plumages of males, respectively. Yellow and grey curves refer to yellow and grey plumages of females, respectively. Male and female photos were taken by Xiao-Dong LIAO and Sui-Xing TIAN, respectively.

1 光谱测量与颜色量化

以荷兰 Avantes 公司生产的 Avaspec-2048 USB2 型光纤光谱仪为例，主要仪器组件为光谱仪主机，配一个卤钨灯光源（Avalight-Hal-S）和反射探头（FCR-7UV200-2-ME），以探头固定器（RPH-1）将探头固定以相对测量表面45º或90º进行反射光谱的测量（Yang et al, 2010a）。两种固定角度都可对动物体色进行测量，用相同角度进行测量的数据可进行比较。探头距离测量部位的距离，在同一研究中需要统一。一般距离测量表面 5 mm，或以光线投射在测量表面形成 1 mm^2 左右的面积为宜。测量时的曝光时间（integration time）要统一设定，曝光时间的长短决定进入探头的光子量，时间越长，进入的光子越多。

本研究以探头距离羽毛表面 45º和距离 5 mm 位置进行反射光谱的测量，曝光时间为 100 ms。探头由双通道光纤线连接光谱仪主机和光源，从光源发出的光线通过测量表面形成反射，再由光谱仪主机对反射光线进行捕获和分析，然后传输到电脑形成数据。测量时要用不透光的遮挡物遮盖测量部位及探头，避免环境光线的影响。体色需要用聚四氟乙烯材料制成的白色漫射板（WS-1）对反射光线的测量进行标准化校正，它能反射所有波长范围 98%以上的光线（Yang et al, 2010a）。用 Ava-Soft 7.0 软件对测量数据进行提取和转化，所提取的光谱范围为 300～700 nm，包括紫外光（300～400 nm）、蓝色光（400～475 nm）、绿色光（475～550 nm）、黄色光（550～625 nm）和红色光（625～700 nm）。本研究测量了山椒鸟雌鸟和雄鸟标本各 10 只，测量的部位包括：山椒鸟头顶部、背部、腹部和翅膀斑块的羽色（图 1）。每个部位随机取测量 2 个位点，分析时每只个体同一颜色的测量数据取其平均值，因此每只雄鸟具有黑色和红色两组数值，每只雌鸟具有灰色和黄色两组数值。

2 光谱的分段分析

通过测量获得的反射光谱如图 1。赤红山椒鸟雄鸟的黑色羽与雌鸟灰色羽的反射曲线相似，都较为平稳，但变异（标准差）较大，雌鸟灰色羽曲线在 500 nm 以后略高于雄鸟黑色羽。雄鸟红色羽和雌鸟黄色羽的反射高峰都位于长波光，但雄鸟拥有更高的红波光放射比和更陡的波形。另外，雌鸟黄色羽在紫外光处具有比雄鸟红色羽较高的波峰。

对于反射曲线，总的反射比代表亮度，根据 Endler（1990）可用如下公式计算：

$$Qt=\sum R(\lambda) \quad (1)$$

其中 R 是某波长 λ 的反射比，Qt 代表反射曲线在 300～700 nm 范围的反射比之和。

各个颜色波段的相对亮度，可以用每个波段的反射比除以总反射比，公式如下：

$$\begin{aligned} U&=Quv/Qt\\ B&=Qb/Qt\\ G&=Qg/Qt\\ Y&=Qy/Qt\\ R&=Qr/Qt \end{aligned} \quad (2)$$

其中，U、B、G、Y、R 分别代表紫外光、蓝色光、

绿色光、黄色光、红色光的相对亮度，*Quv*、*Qb*、*Qg*、*Qy*、*Qr* 分别代表紫外光、蓝色光、绿色光、黄色光、红色光的反射比。

反射曲线的波峰高度代表了色度，即色彩饱和度，其计算公式为：

$$C=\sqrt{(R-G)^2+(Y-B)^2}=\sqrt{LM^2+MS^2} \qquad (3)$$

其中 *LM* 代表红色和绿色光的相对反射比差异，*MS* 代表黄色光和绿色光的相对反射比差异。

色调就是俗话所说的颜色，在反射曲线中，不同的波形代表不同的色调，其计算公式为：

$$H=arc\ \mathrm{Sin}\ (MS\ /\ C)=arc\ \mathrm{COS}\ (LM\ /\ C) \qquad (4)$$

其中 H 的色调值为一弧度，范围从 0~2π，也可转化为角度，即 0°~360°，在色调的三基色（RGB）系统中，对应的颜色为红色、黄色、绿色、蓝色、紫色再到红色。所以一个颜色的色调数值为沿顺时针从红色（0°）开始旋转的角度。

所计算的颜色参数如表 1。雄鸟红色羽与雌鸟黄色羽在总亮度、色度和色调上都呈极显著差异。其中总亮度和色调上雌鸟黄色羽高于雄鸟红色羽，而色度上则相反。从分段亮度上，蓝色光的相对反射比在雌、雄鸟间无显著差异，紫外光亮度雌鸟高于雄鸟，这是由于雌鸟在紫外光处有较高波峰（图 1）。雄鸟黑色羽和雌鸟灰色羽在色度和绿色光相对亮度上均无显著差异，其他颜色参数则存在极显著差异（表 1）。色调和紫外光亮度这两个参数在雌、雄鸟之间的极显著差异通过图 1 的反射曲线无法直观预测。

表 1　赤红山椒鸟雌、雄鸟间羽色分段光谱的比较

Table 1　Color parameters of spectra segments between male and female scarlet minivets (*Pericrocotus flammeus*)

	雄鸟 Male （n=10）	雌鸟 Female （n=10）	Statistics	*P*
红色羽 vs.黄色羽 Red vs. Yellow				
总亮度 *Qt*	15557.71±1913.86	18933.33±1864.59	t=3.00	0.001**
色调 *H*	27.18±1.96	52.31±1.39	t=33.10	<0.001**
色度 *C*	0.55±0.04	0.36±0.02	t=−13.36	<0.001**
紫外亮度 *U*	0.09±0.01	0.11±0.02	t=2.39	0.03*
蓝色亮度 *B*	0.04±0.01	0.05±0.01	t=1.22	0.24
绿色亮度 *G*	0.05±0.01	0.15±0.01	t=27.98	<0.001**
黄色亮度 *Y*	0.29±0.01	0.33±0.01	t=9.32	<0.001**
红色亮度 *R*	0.53±0.03	0.37±0.02	t=−15.7	<0.001**
黑色羽 vs.灰色羽 Black vs. Grey				
总亮度 *Qt*	5106.52±541.12	7494.63±932.34	t=7.01	<0.001**
色调 *H*	304.37±8.18	48.86±6.73	Z=−3.78	<0.001**
色度 *C*	0.06±0.01	0.06±0.03	t=−0.50	0.63
紫外亮度 *U*	0.26±0.01	0.19±0.02	t=−10.27	<0.001**
蓝色亮度 *B*	0.21±0.01	0.17±0.02	t=−8.29	<0.001**
绿色亮度 *G*	0.20±0.01	0.20±0.01	t=0.31	0.76
黄色亮度 *Y*	0.16±0.01	0.21±0.01	t=10.58	<0.001**
红色亮度 *R*	0.16±0.01	0.24±0.02	t=11.57	<0.001**

*：差异显著; **：差异极显著。

*: Statistically significant; **: Statistically highly significant.

3　视觉模型构建

3.1　原理与公式

人类视觉是基于三基色（RGB）的可见光范围，而许多动物具有四面体颜色系统，包括人眼无法探测的紫外光（图 2）。在动物四面体颜色空间里，*u*、*s*、*m* 和 *l* 分别代表视锥细胞的 4 种颜色信号通道：紫外、短波、中波和长波光；非彩色原点指 4 种颜色信号通道的相对刺激达到平衡时的色点，为中性灰色；视觉空间中的某一颜色点，其颜色可用一矢量球形坐标（θ，φ，r）来代表，其中 θ 和 φ 分别代表色调的可见光（VIS）和紫外光（UV）部分，对应色调经度和纬度；而颜色的色度（即色彩饱和度）r 为该色点到非彩色原点之间的距离（Goldsmith,

1990; Yang et al, 2011, 2012)。

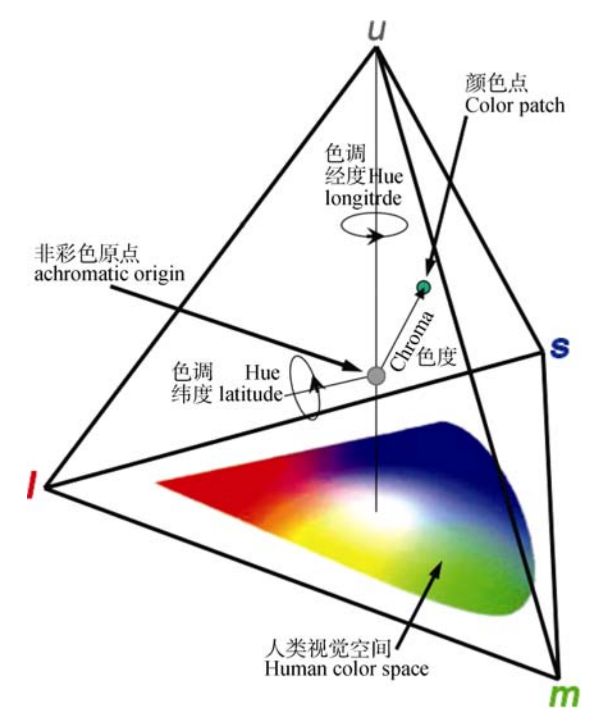


图 2 动物视觉的四面体颜色空间

改自 Endler & Mielke (2005)

Figure 2 A tetrahedral color space of animal vision

(Modified from Endler & Mielke (2005))

在视觉模型的构建中，考虑到环境光线的影响和不同动物的视锥细胞在 4 种颜色信号通道上的敏感度差异（Endler, 1990; Goldsmith, 1990）。一个颜色斑块所发出的某波段光线 λ 到达动物眼睛的光子量可用以下公式计算：

$$Q(\lambda,X)=I(\lambda)R(\lambda)T(\lambda,X)+V(\lambda) \quad (5)$$

其中，X 为颜色斑块距眼睛的距离，I（λ）为照亮颜色斑块的环境光线辐射照度，R（λ）是入射光线在颜色斑块上的反射率，T（λ, X）为颜色斑块通过 X 距离传导到动物眼睛的透射光量，V（λ）指空气中雾和灰尘颗粒反射到动物眼睛的光线。

每个动物个体都生存于某一特定的环境和视觉背景下，由环境和视觉背景发出的辐射光照也会到达动物眼睛，影响动物对颜色的探测。这种辐射照度可用以下公式计算：

$$E(\lambda)=\sum_P I(\lambda)R_P(\lambda)T(\lambda,X_P)+V(\lambda) \quad (6)$$

其中，P 代表背景的某种颜色，R_P（λ）是背景颜色的反射光，T（λ, X_P）指背景颜色通过距离 X 传导到达动物眼睛的透射光量。

接着需要考虑到动物眼睛的光感受器，根据 Autrum（1981），一种光感受器 pr 对特定波段光谱的捕获能力用以下公式进行计算：

$$C_{pr}(\lambda)=\frac{A_P T_e(\lambda)T_{or}(\lambda)A_{pr}(1-10^{-\alpha d_{pr}G_{pr}(\lambda)})}{d_n^2} \quad (7)$$

其中，A_P 指动物眼睛的瞳孔面积，T_e（λ）是传导到眼睛的透射光量，T_{or}（λ）是传导到光感受器 pr 油滴的透射光量，A_{pr} 是光感受器的内段横截面积，α 是光感受器外段对特定光谱的吸收能力，d_{pr} 是光感受器外段的长度，G_{pr}（λ）是光感受器 pr 对视觉色素的吸收模板，其计算详见 Govardovskii et al（2000），而 d_n 是眼睛的后节点距离，即眼睛节点到光感受器的焦距。对于许多动物眼睛的光学特性，特别是那些具有油滴和光导向特性的动物，目前尚不是很清楚。公式 7 是对动物光感受器捕获光线的模拟，许多参数在随后的计算中被抵消（Goldsmith, 1990）。

根据公式 5 和 7，一个颜色斑块的辐射光照被光感受器 pr 捕获的总光子量为：

$$Q_{pr}(X)=\int_{300}^{700} Q(\lambda,X)C_{pr}(\lambda)d\lambda \quad (8)$$

相应地，根据公式 6 和 7，环境或背景颜色的辐射光照被光感受器 pr 捕获的总光子量为：

$$Q_{Er}=\int_{300}^{700} E(\lambda)C_r(\lambda)d\lambda \quad (9)$$

综上所述，光感受器 pr 对颜色的刺激输出（stimulation output）可以通过以下公式计算：

$$S_{pr}=c_{pr}\ln(Q_{pr}(X)/Q_{Er}) \quad (10)$$

其中，c_{pr} 是基于神经传导的理化特性，为光感受器外段神经的刺激输出常数，在随后的计算中该参数被抵消。

一个颜色斑块在四面体颜色空间上的分布，是由 u、s、m 和 l 四种颜色通道对应的光感受器刺激输出决定的，其计算公式分别为：

$$\begin{aligned} u &= S_1/\sum S_{pr} \\ s &= S_2/\sum S_{pr} \\ m &= S_3/\sum S_{pr} \\ l &= S_4/\sum S_{pr} \end{aligned} \quad (11)$$

其中，$pr = 1, 2, 3, 4$，分别代表 u、s、m 和 l 四种颜色通道对应的光感受器。

根据这 4 种颜色的刺激输出，可以通过以下公式换算成四面体颜色空间的三维坐标：

$$x=\frac{1-2s-m-u}{2}\sqrt{\frac{3}{2}}$$
$$y=\frac{-1+3m+u}{2\sqrt{2}} \quad (12)$$
$$z=u-\frac{1}{4}$$

其中，x、y 和 z 为三维空间的直角坐标。

色度为颜色信号的强度，代表视锥细胞间刺激程度的差异，为某颜色斑块色点到非彩色原点的欧几里得距离（euclidean distance）：

$$r=D_T=\sqrt{x^2+y^2+z^2} \quad (13)$$

以上公式所涉及的反射光、透射光、辐射光照都可通过光谱仪的不同测量模式进行量化。本研究设定公式 5 中 $T(\lambda, X) = 1$，$V(\lambda) = 0$，即在晴天无雾的环境下，颜色斑块反射的光线都能到达动物的眼睛。用 UVS 类型的鸟类视网膜平均光敏感度曲线来代表山椒鸟光感受器对 4 种颜色信号通道的敏感度（Yang et al, 2012）。

3.2　四面体颜色空间与罗宾逊投影

根据以上公式计算出来的 4 种视锥细胞相对刺激比如表 2，用编程和构图软件 Matlab 将其转换为直角坐标，并投射到四面体颜色空间（图 3），表明赤红山椒鸟雌、雄鸟之间的体色分布完全分离。雄鸟黑色羽和雌鸟灰色羽靠近四面体的非彩色原点，说明其色度较低，分别为 0.051 ± 0.011 和 0.065 ± 0.022，两者差异不显著（$t = -1.75$, $df = 18$, $P = 0.097$, independent samples *t*-Test）。雄鸟红色羽的色度则极显著高于雌鸟黄色羽（0.423 ± 0.033 vs. 0.291 ± 0.020, $t = 10.94$, $df = 18$, $P < 0.001$）。很明显，雄鸟红色羽和雌鸟黄色羽在四面体颜色空间中分别位于红色光和黄色光区域（图 3）。

色调由四面体颜色空间中的经度和纬度决定，可用类似地球经纬度的球面体（罗宾逊投影）来反映颜色的色调，其优点是能独立于色度之外比较颜色的色调（Yang et al, 2010b, 2012）。赤红山椒鸟羽色在罗宾逊投影上的二维分布如图 4，色调弧度 θ 和 φ 分别为色点与三维直角坐标系 x 和 z 轴的夹角。雄鸟红色羽与雌鸟黄色羽的色调变异小而集中，且两者完全分离；雄鸟黑色羽与雌鸟灰色羽的色调变异大而分散，两者间的分离也很大；前者的色调分布位于北半球，而后者都位于南半球，表明雄鸟黑色羽在紫外光色调上明显高于雌鸟灰色羽，而这些色调差异的程度在图 3 的四面体颜色空间中则无法表现。

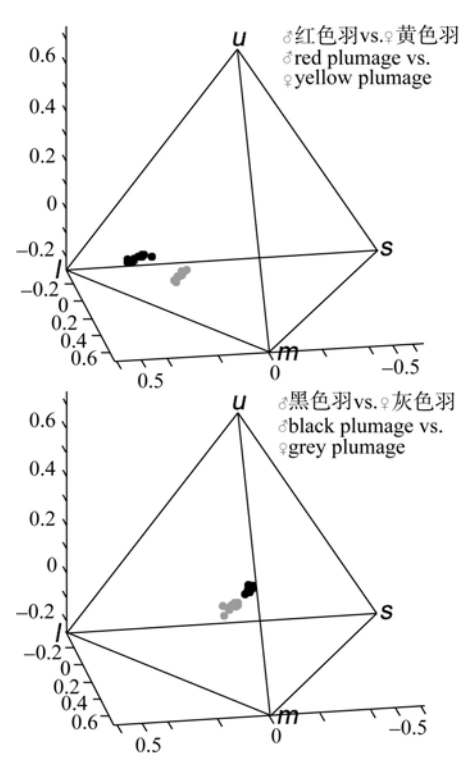


图 3　赤红山椒鸟雌、雄鸟羽色在四面体颜色空间的分布
Figure 3　Distributions of the plumage colors of male and female scarlet minivets (*Pericrocotus flammeus*) in tetrahedral color spaces
黑色和灰色点分别代表雄鸟和雌鸟
Black and grey circles refer to male and female, respectively.

3.3　颜色跨度和空间容量

通过视觉模型，还可以计算动物颜色的跨度（color span）和空间容量（color space volume）。颜色跨度指两个颜色斑块之间的对比度，以两者间欧几里得距离的差异表示，即：

$$\Delta_T=\sqrt{(x_a-x_b)^2+(y_a-y_b)^2+(z_a-z_b)^2} \quad (14)$$

其中，a 和 b 代表进行比较的两个颜色斑块。

对于任一鸟种的羽色，可计算每两个测量斑块之间的颜色跨度，得出平均颜色跨度和颜色跨度变异。本研究中计算出的雄鸟平均颜色跨度及其变异分别为 2.63×10^{-1} 和 4.66×10^{-2}，雌鸟则分别为 1.43×10^{-1} 和 1.07×10^{-2}。

表 2 基于视觉模型的赤红山椒鸟羽色参数

Table 2 Color parameters of scarlet minivets (*Pericrocotus flammeus*) based on visual modeling

	视锥细胞相对刺激比（%）Relative stimulation of color cones（%）				色调 （弧度）Hue （radians）		色度 Chroma （*r*）
	u	*s*	*m*	*l*	*θ*	*φ*	
雄性 Male （*n*=10）							
黑色羽 Black plumage	0.26	0.28	0.25	0.21	3.08	0.15	0.05
	0.28	0.28	0.23	0.21	−3.01	0.55	0.05
	0.25	0.27	0.25	0.22	2.99	−0.02	0.03
	0.26	0.28	0.25	0.21	3.04	0.27	0.04
	0.27	0.28	0.24	0.21	−3.03	0.51	0.05
	0.28	0.29	0.23	0.20	−2.98	0.45	0.07
	0.27	0.29	0.24	0.20	−3.10	0.30	0.06
	0.25	0.29	0.24	0.21	−2.99	0.05	0.05
	0.28	0.28	0.23	0.21	−3.01	0.66	0.05
	0.29	0.28	0.23	0.20	−3.00	0.62	0.06
红色羽 Red plumage	0.09	0.06	0.37	0.48	−0.36	−0.34	0.44
	0.10	0.06	0.37	0.46	−0.39	−0.37	0.45
	0.10	0.07	0.37	0.46	−0.39	−0.34	0.46
	0.12	0.07	0.36	0.45	−0.39	−0.34	0.40
	0.11	0.06	0.38	0.46	−0.38	−0.34	0.40
	0.12	0.07	0.36	0.44	−0.37	−0.33	0.40
	0.10	0.06	0.36	0.47	−0.36	−0.36	0.44
	0.13	0.08	0.36	0.43	−0.28	−0.35	0.36
	0.08	0.06	0.38	0.48	−0.35	−0.36	0.46
	0.08	0.06	0.38	0.48	−0.39	−0.34	0.42
雌性 Female （*n*=10）							
灰色羽 Grey plumage	0.17	0.22	0.29	0.31	0.30	−0.92	0.10
	0.21	0.20	0.29	0.30	0.42	−0.47	0.08
	0.20	0.23	0.28	0.29	0.32	−0.88	0.07
	0.22	0.25	0.26	0.27	0.25	−1.19	0.04
	0.21	0.23	0.28	0.28	0.57	−0.83	0.05
	0.22	0.25	0.27	0.26	1.08	−1.17	0.04
	0.19	0.23	0.28	0.29	0.38	−0.98	0.07
	0.21	0.26	0.27	0.27	0.99	−1.47	0.05
	0.20	0.25	0.27	0.27	0.80	−1.31	0.05
	0.17	0.22	0.29	0.31	0.30	−0.92	0.10
黄色羽 Yellow plumage	0.11	0.05	0.16	0.68	0.32	−0.52	0.28
	0.09	0.06	0.15	0.70	0.27	−0.54	0.32
	0.09	0.05	0.14	0.71	0.31	−0.52	0.29
	0.12	0.08	0.16	0.64	0.30	−0.54	0.29
	0.12	0.07	0.16	0.65	0.30	−0.47	0.28
	0.12	0.07	0.17	0.65	0.33	−0.50	0.30
	0.10	0.05	0.17	0.68	0.32	−0.49	0.27
	0.13	0.07	0.20	0.60	0.26	−0.52	0.30
	0.09	0.04	0.17	0.71	0.34	−0.48	0.26
	0.11	0.07	0.16	0.67	0.28	−0.57	0.32

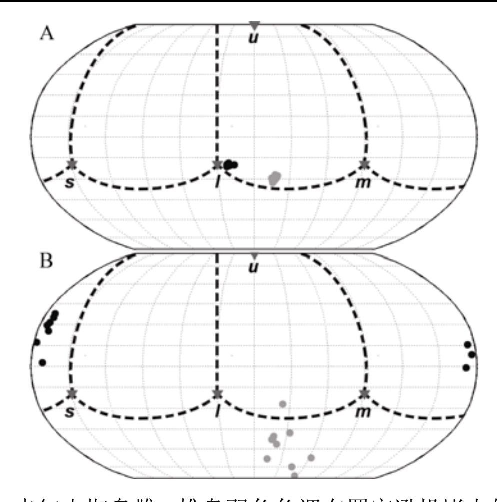


图 4　赤红山椒鸟雌、雄鸟羽色色调在罗宾逊投影上的分布
Figure 4　Distributions of plumage color hues of male and female (*Pericrocotus flammeus*) in Robinson projections
三角形所示为四面体的 4 个至高点 *u*、*s*、*m* 和 *l*；A 代表雌雄鸟黄色羽和红色羽的比较，B 代表雌雄鸟灰色羽和黑色羽的比较；黑色和灰色点分别代表雄鸟和雌鸟。
Triangles indicate the *u*, *s*, *m* and *l* vertices of the tetrahedron. A refers to the comparison of red and yellow plumages between male and female. B refers to the comparison of black and grey plumages between male and female. Black and grey circles refer to male and female, respectively.

颜色空间容量代表一种鸟类的羽色多样性，是鸟类各部分羽色斑块占四面体颜色空间的总体积，基于最小凸多边形的体积进行计算。最小凸多边形法(MCP）(Mohr, 1947）的基本计算公式为：

$$A=\frac{x_1(y_n-y_2)+\sum_{i=2}^{n-1}x_i(y_{i-1}-y_{i+1})+x_n(y_{n-1}-y_1)}{2} \tag{15}$$

其中，$i = 1, 2, ..., n$ 代表各个颜色斑块。

颜色跨度是线性参数，而颜色空间容量是三维参数，所以颜色种类少。但不同颜色之间差异大的动物，具有较高的颜色跨度和较小的颜色空间容量；相反，如果动物所含的颜色种类多，但不同颜色之间差异小，则具有较低的颜色跨度和较高的颜色空间容量。本研究中山椒鸟雄鸟和雌鸟的颜色空间容量分别为 7.33×10^{-4} 和 3.71×10^{-4}。以上两个参数不适于具体某两个颜色斑块的比较，而是用于比较不同的性别或两种不同的动物之间的总体颜色。所以，要使用颜色跨度和空间容量，在测量光谱时应该首先对研究对象的整体颜色进行分层随机取样，这样得出的结果才能较好地代表动物个体的整体颜色。

4　结　语

光纤光谱仪很好地实现了对动物体色的量化，包括人眼无法探测的紫外光部分，使研究较客观地评价动物体色。通过颜色的反射光谱图可直接获得一定的信息，因为反射总比率代表亮度，而波形和波峰的高低则分别与色调和色度相关。然而，仍有许多信息无法直接从反射光谱图中获得，需要通过分段光谱分析或视觉模型构建来进行提取。视觉模型考虑到环境光线的影响，以及动物眼睛光感受器对光线的捕获能力，能模拟动物的视觉角度分析动物体色。以往研究发现，紫外光在许多动物的信息传递和交流中扮演重要作用，即使在可见光部分，有些动物对某个波段的光也比人类更为敏感（Bennett et al, 1997; Honkavaara et al, 2002），因此视觉模型在动物体色研究中具有重要作用。但其计算较为复杂，而且对计算机编程和构图具有一定要求，建议用公式 1—4 来量化动物体色，有条件时可通过构建视觉模型来分析动物体色。需要注意的是，视觉模型需要考虑动物光感受器对 4 种颜色信号通道的敏感度，显然这在不同动物之间是有差异的，迄今只有少部分动物具有这方面的信息（Blough, 1957; Baylor & Fettiplace, 1975; Hart et al, 1998; Robinson et al, 1993）。此外，不是所有的动物都具有紫外光探测能力，所以研究人员要根据实际情况，选择适合自己研究对象的分析方法。

致　谢　中国科学院昆明动物研究所为本项研究提供大力支持和帮助。杨晓君研究员、董峰博士和吴俊秋协助标本光谱测量；廖晓东和田穗兴分别提供赤红山椒鸟雄鸟和雌鸟照片。谨致谢意。

参考文献：

Alonso-Alvarez C, Bertrand S, Devevey G, Gaillard M, Prost J, Faivre B, Sorci G. 2004. An experimental test of the dose-dependent effect of carotenoids and immune activation on sexual signals and antioxidant activity. *The American Naturalist,* **164**(5): 651-659.

Andersson MB. 1994. Sexual Selection. Princeton: Princeton Uni. Press.

Archer SN, Lythgoe JN. 1990. The visual pigment basis of cone

polymorphism in the guppy, *Poecilia reticulata*. *Vision Research,* **30**: 225-233.

Autrum H, Jung R, Loewenstein WR, MacKay DM, Teuber HL. 1981. Handbook of Sensory Physiology. New York: Springer-Verlang.

Baylor DA, Fettiplace R. 1975. Light path and photon capture in turtle photoreceptors. *Journal of Physiology,* **248**: 433-464.

Bennett ATD, Cuthill IC. 1994. Ultraviolet vision in birds: what is its function? *Vision Research,* **34**(11): 1471-1478.

Bennett ATD, Cuthill IC, Partridge JC, Lunau K. 1997. Ultraviolet plumage colors predict mate preferences in starlings. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America,* **94**(16): 8618-8621.

Blough DS. 1957. Spectral sensitivity in the pigeon. *Journal of the Optical Society of America A,* **47**(9): 827-833.

Bowmaker JK. 1998. Evolution of colour vision in vertebrates. *Eye,* **12**(3B): 541-547.

Bowmaker JK, Thorpe A, Douglas RH. 1991. Ultraviolet-sensitive cones in the goldfish. *Vision Research,* **31**(3): 349-352.

Burton GW. 1989. Antioxidant action of carotenoids. *The Journal of Nutrition,* **119**(1): 109-111.

Cuthill IC, Partridge JC, Bennett ATD, Church SC, Hart NS, Hunt S. 2000. Ultraviolet vision in birds. *Advances in the Study of Behavior,* **29**: 159-214.

Darst CR, Cummings ME, Cannatella DC. 2006. A mechanism for diversity in warning signals: Conspicuousness versus toxicity in poison frogs. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America,* **103**(15): 5852-5857.

Darwin C. 1871. The Descent of Man and Selection in Relation to Sex. London: John Murray.

Endler JA. 1990. On the measurement and classification of colour in studies of animal colour patterns. *Biological Journal of the Linnean Society,* **41**(4): 315-352.

Endler JA, Mielke PW. 2005. Comparing entire colour patterns as birds see them. *Biological Journal of the Linnean Society,* **86**(4): 405-431.

Fleishman LJ, Loew ER, Leal M. 1993. Ultraviolet vision in lizards. *Nature,* **365**(6445): 397.

Goldsmith TH. 1990. Optimization, constraint, and history in the evolution of eyes. *The Quarterly Review of Biology,* **65**(3): 281-322.

Goldstein G, Flory KR, Browne BA, Majid S, Ichida JM, Burtt EH. 2004. Bacterial degradation of black and white feathers. *The Auk,* **121**(3): 656-659.

Govardovskii VI, Fythrquist N, Reuter T, Kuzmin DG, Donner K. 2000. In search of the visual pigment template. *Visual Neuroscience,* **17**(4): 509-528.

Hart NS, Partridge JC, Cuthill IC. 1998. Visual pigments, oil droplets and cone photoreceptor distribution in the European starling (*Sturnus vulgaris*). *The Journal of Experimental Biology,* **201**(9): 1433-1446.

Hill GE, McGraw KJ. 2006. Bird Coloration: Function and Evolution. Cambridge: Harvard University Press.

Hoekstra HE. 2006. Genetics, development and evolution of adaptive pigmentation in vertebrates. *Heredity,* **97**(3): 222-234.

Honkavaara J, Aberg H, Viitala J. 2008. Do house mice use UV cues when foraging? *Journal of Ethology,* **26**(3): 339-345.

Honkavaara J, Koivula M, Korpimäki E, Siitari H, Viitala J. 2002. Ultraviolet vision and foraging in terrestrial vertebrates. *Oikos,* **98**(3): 505-511.

Hunt S, Bennett ATD, Cuthill IC, Griffiths R. 1998. Blue tits are ultraviolet tits. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences,* **265**(1395): 451-455.

Jacobs GH. 1992. Ultraviolet vision in vertebrates. *American Zoologist,* **32**(4): 544-554.

Jacobs GH, Deegan JF II. 1994. Sensitivity to ultraviolet light in the gerbil (*Meriones unguiculatus*): characteristics and mechanisms. *Vision Research,* **34**(11): 1433-1411.

Jawor JM, Breitwisch R. 2003. Melanin ornaments, honesty, and sexual selection. *The Auk,* **120**(2): 249-265.

Kilner RM. 2006. The evolution of egg colour and patterning in birds. *Biological Reviews,* **81**(3): 383-406.

Koshitaka H, Kinoshita M, Vorobyev M, Arikawa K. 2008. Tetrachromacy in a butterfly that has eight varieties of spectral receptors. *Proceedings of the Roy Society B: Biological Sciences,* **275**(1637): 947-954.

Linnen CR, Kingsley EP, Jensen JD, Hoekstra HE. 2009. On the origin and spread of an adaptive allele in deer mice. *Science,* **325**(5944): 1095-1098.

Lyytinen A, Brakefield PM, Mappes J. 2003. Significance of butterfly eyespots as an anti-predator device in ground-based and aerial attacks. *Oikos,* **100**(2): 373-379.

Macías-Sánchez E, Martínez JG, Avilés JM, Soler M. 2013. Sexual differences in colour and size in the great spotted cuckoo *Clamator glandarius*. *Ibis,* **155**(3): 605-610, doi:10.1111/ibi.12045.

MacKinnon J, Phillipps K. 1999. A Field Guide to the Birds of China. Oxford: Oxford University Press.

Mahler B, Kempenaers B. 2002. Objective assessment of sexual plumage dichromatism in the Picui dove. *Condor,* **104**(2): 248-254.

Mays HL Jr, McGram KJ, Ritchision G, Cooper S, Rush V, Parker RS. 2004. Sexual dichromatism in the yellow-breasted chat *Icteria virens*: spectrophotometric analysis and biochemical basis. *Journal of Arian Biology,* **35**(2): 125-134.

McFarland WN, Loew ER. 1994. Ultraviolet visual pigments in marine fishes of the family pomacentridae. *Vision Research,* **34**(11): 1393-1396.

Mohr CO. 1947. Table of equivalent populations of North American small mammals. *American Midland Naturalist,* **37**(1): 223-249.

Nachman MW, Hoekstra HE, D'Agostino SL. 2003. The genetic basis of adaptive melanism in pocket mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America,* **100**(9): 5268-5273.

Perry RJ, McNaughton PA. 1991. Response properties of cones from the retina of the tigar salamander. *The Journal of Physiology,* **433**: 561-587.

Peters A. 2007. Testosterone and carotenoids: An integrated view of trade-offs between immunity and sexual signalling. *BioEssays,* **29**(5): 427-430.

Protas ME, Patel NH. 2008. Evolution of coloration patterns. *Annual*

Review of Cell and Developmental Biology, **24**(1): 425-446.

Robinson J, Schmitt EA, Hárosi FI, Reece RJ, Dowling JE. 1993. Zebrafish ultraviolet visual pigment: Absorption spectrum, sequence, and localization. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America,* **90**(13): 6009-6012.

Rosenblum EB, Hoekstra HE, Nachman MW. 2004. Adaptive reptile color variation and the evolution of the *Mc1r* gene. *Evolution,* **58**(8): 1794-1808.

Safran RJ, McGraw KJ. 2004. Plumage coloration, not length or symmetry of tail-streamers, is a sexually selected trait in North American barn swallows. *Behavioral Ecology,* **15**(3): 455-461.

Slagsvold T, Dale S, Kruszewicz A. 1995. Predation favours cryptic coloration in breeding male pied flycatchers. *Animal Behaviour,* **50**(4): 1109-1121.

Spottiswoode CN, Stevens M. 2010. Visual modeling shows that avian host parents use multiple visual cues in rejecting parasitic eggs. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America,* **107**(19): 8672-8676.

Steiner CC, Römpler H, Boettger LM, Schöneberg T, Hoekstra HE. 2009. The genetic basis of phenotypic convergence in beach mice: similar pigment patterns but different genes. *Molecular Biology and Evolution,* **26**(1): 35-45.

Tovée MJ. 1995. Ultra-violet photoreceptors in the animal kingdom: their distribution and function. *Trends in Ecology and Evolution,* **10**(11): 455-460.

Ventura DF, Souza De JM, Devoe RD, Zana Y. 1999. UV responses in the retina of the turtle. *Visual Neuroscience,* **16**(2): 191-204.

Villafuerte R, Negro JJ. 1998. Digital imaging for colour measurement in ecological research. *Ecology Letters,* **1**(3): 151-154.

Yang C, Cai Y, Liang W. 2010a. Brood parasitism and egg mimicry on brownish-flanked bush warbler (*Cettia fortipes*) by lesser cuckoo (*Cuculus poliocephalus*). *Zoological Research,* **31**(5): 555-560.

Yang C, Cai Y, Liang W. 2011. Visual modeling reveals cryptic aspect in egg mimicry of Himalayan cuckoo (*Cuculus saturatus*) on its host Blyth's leaf warbler (*Phylloscopus reguloides*). *Zoological Research,* **32**(4): 451-455.

Yang C, Antonov A, Cai Y, Stokke BG, Moksnes A, Røskaft E, Liang W. 2012. Large hawk-cuckoo *Hierococcyx sparverioides* parasitism on the Chinese babax *Babax lanceolatus* may be an evolutionarily recent host-parasite system. *Ibis,* **154**(1): 200-204.

Yang C, Wang L, Hsu Y-C, Antonov A, Moksnes A, Røskaft E, Liang W, Stokke BG. 2013. UV reflectance as a cue in egg discrimination in two *Prinia* species exploited differently by brood parasites in Taiwan. *Ibis,* **155**(3): 571-575.

Yang C, Liang W, Cai Y, Shi S, Takasu F, Møller AP, Antonov A, Fossøy F, Moksnes A, Røskaft E, Stokke BG. 2010b. Coevolution in action: Disruptive selection on egg colour in an avian brood parasite and its host. *PLoS ONE,* **5**(5): e10816. doi:10.1371/journal.pone.0010816.

动 物 学 研 究 2013，Dec. 34(6): 574−581 CN 53-1040/Q ISSN 0254-5853
Zoological Research DOI:10.11813/j.issn.0254-5853.2013.6.0574

随机限食和重喂食对小鼠体重、能量收支及瘦素的影响

赵志军[1,*]，魏文涛[2]，李明振[2]，曹 静[1,2]

1. 温州大学 生命与环境科学学院， 浙江 温州 325035
2. 聊城大学 农学院， 山东 聊城 252059

摘要：为阐明限食和重喂食（SFR-Re）诱导的体重“补偿性增长”生理机制，该文测定了 SFR-Re 驯化的 KM 小鼠能量摄入与支出、身体成分以及血清瘦素水平。结果显示，随机限食使体重显著降低，重喂食后体重增加至对照组水平。驯化结束后，SFR-Re 驯化小鼠基础代谢率增加，产热降低，褐色脂肪组织（BAT）细胞色素 c 氧化酶（COX）活性和解偶联蛋白 1（UCP1）水平显著降低，摄入能、消化率和脂肪重量均显著高于自由取食的对照组小鼠，但血清瘦素水平组间差异不显著。即在食物资源丰富的条件下，经历食物短缺的动物将增加能量摄入和消化吸收效率以及脂肪组织能量贮存，从而导致体重的“补偿性增长”，同时，血清瘦素可能在该过程中发挥重要作用。

关键词：脂肪；能量收支；限食；瘦素；小鼠；产热
中图分类号：Q493.8；Q494 **文献标志码**：A **文章编号**：0254-5853-(2013)06-0574-08

Body mass, energy budget and leptin of mice under stochastic food restriction and refeeding

Zhi-Jun ZHAO[1,*], Wen-Tao WEI [2], Ming-Zhen LI [2], Jing CAO[1, 2]

1. *School of Life and Environmental Sciences*, *Wenzhou University*, *Wenzhou* 325035, *China*
2. *School of Agricultural Science*, *Liaocheng University*, *Liaocheng* 252059, *China*

Abstract: Periods of restricted food intake that lead to lower body weight are often followed by rapid regaining of the lost weight after *ad libitum* refeeding, an event generally known as the “compensatory growth”. To explore the physiological mechanisms underlying “compensatory growth”, we evaluated a series of energetic parameters (energy intake, energy expenditure, body composition and serum leptin levels) of adult KM mice subjected to three cycles of stochastic food restriction following by *ad libitum* refeeding (SFR-Re). The results indicated that animals lost their body mass after stochastic food restriction and then regained to the control level after refeeding. After the final cycle, SFR-Re mice showed higher basal metabolic rate, lower nonshivering thermogenesis, and their cytochrome c oxydase activities, as well as uncoupling protein 1(UCP1) contents of brown adipose tissue all decreased compared with controls. Meanwhile, higher energy intake and digestibility, as well as heavier fat pads also were found in SFR-Re mice. But, serum leptin levels showed no difference between SFR-Re and control mice. On the whole, these findings indicated that when food is resourceful, SFR-Re mice are under rapid “compensatory growth” by increasing their food intake and energy storage efficiency, meanwhile, decreasing energy consumption in thermogenesis. Moreover, leptin may be a possible player in the regulations of energy budget and thermogenesis during “compensatory growth”.

Keywords: Body fat; Energy budget; Food restriction; Leptin; Swiss mice; Thermogenesis

食物资源变化是影响动物体重和能量代谢的主要因素。限食可降低大、小鼠体重和脂肪含量，而恢复自由取食后其体重将反弹的现象被称为体重的“补偿性增长”（Sohar & Sneh，1973；Szepesi & Epstein，1977；Cleary，1986a，b；Weindruch & Sohal，1997；Alvarenga et al，2005；Speakman & Hambly，2007；Speakman & Mitchell，2011）。自由取食后动物能量摄入和消化效率的显著增加，被认为是导致体重“补偿性增长”的主要原因（Cleary，1986a，b；Archambault et al，1989）。能量支出在

收稿日期：2013-03-05；接受日期：2013-05-26
基金项目：国家自然科学基金（31070367、31270458）
*通信作者（Corresponding author），E-mail: zhaozj73@yahoo.com.cn
第一作者简介：赵志军（1973−），男，博士，副教授，硕士研究生导师，主要从事动物生理生态学研究

能量平衡的生理调节中具有重要地位，体重变化取决于能量摄入和支出的失衡。基础代谢率（basal metabolic rate，BMR）、非颤抖性产热（nonshivering，NST）和活动行为是能量支出的重要组成成分，且均受限食影响（Hambly & Speakman，2005；Speakman & Mitchell，2011）。不同动物对限食驯化的反应并不完全相同，且与动物的限食方案（如限食程度、持续时间等）及种属差异等有关。例如，限食 80%的 MF1 小鼠和限食 40%～50%的实验大鼠的 BMR 和活动行为显著降低（Alvarenga et al，2005；Hambly & Speakman，2005）。随机限食的 KM 小鼠和黑线仓鼠（*Cricetulus barabensis*）活动行为增加（Cao et al，2009；Zhao & Cao，2009；Zhao et al，2009a，b）。重喂食后，能量支出将恢复至驯化前水平，表明能量支出的适应性变化也是动物应对食物资源波动的能量学策略之一，然而，该变化在动物体重“补偿性增长”过程中的作用尚不清楚。

瘦素是白色脂肪组织合成和分泌的蛋白类激素，在体重和能量代谢的生理调节中发挥重要作用（Friedman & Halaas，1998；Zhao & Wang，2006）。机体瘦素水平取决于脂肪的贮存情况（Friedman & Halaas，1998；Wisse et al，1999）。限食诱导体重和脂肪含量降低的同时，血清瘦素水平也显著减低（Wisse et al，1999；Gutman et al，2006；Zhang & Wang，2008）。恢复自由取食后体重和脂肪反弹的同时，也伴随着血清瘦素水平的显著上升（Wisse et al，1999；Zhang & Wang，2008）。因此，在限食和重喂食诱导的体重“补偿性增长”过程中，瘦素可能参与能量摄入和支出调节。

KM小鼠在食物短缺时，表现能量支出的生理适应性调节（Cao et al，2009；Zhao & Cao，2009；Zhao et al，2009a，b，c），在食物资源波动时，则表现体重的“补偿性增长”（Zhao et al，2011）。然而，体重“补偿性增长”过程中能量摄入和支出的变化及其生理调节机制尚不明确。本研究将KM小鼠驯化于连续的随机限食和重喂食（SFR-Re）以测定其摄食量、BMR、NST以及褐色脂肪组织（brown adipose tissue，BAT）细胞色素c氧化酶（cytochrome c oxydase，COX）活性和解偶联蛋白1（uncoupling protein 1，UCP1）含量。我们假设，SFR-Re驯化后的小鼠将显著增加其摄食量，并降低BMR、NST和活动行为，表现体重的“补偿性增长”，同时，血清瘦素可能参与该过程中能量收支的生理调节。

1　材料与方法

1.1　实验动物与实验方案

雄性 KM 小鼠（8~10 周龄）购自山东大学实验动物中心（生产许可证号：SCXK（鲁）2003~0004）。单笼饲养，光照 12L:12D（光照 8:00—20:00），温度（23±1）℃，自由取食（北京科澳协力饲料有限公司标准鼠饲料，粗脂肪 6.2%、粗蛋白 20.8%、中性洗涤纤维 23.1%、酸性洗涤纤维 12.5%、灰分 10.0%、能值 17.5 kJ/g）。动物随机分为对照组（自由取食）（Con，*n*=20）及随机限食后重喂食组（SFR-Re，*n*=23）。第一周随机选取 1 d 任其自由取食，其余 6 d 随机饲喂其自由摄食量的 0%、20%、40%、60%、80%和 100%，第二周恢复自由取食（亦称重喂食），如此称为一次 SFR-Re（即随机限食一周+重喂食一周），重复 3 次（共 6 周，图 1）。

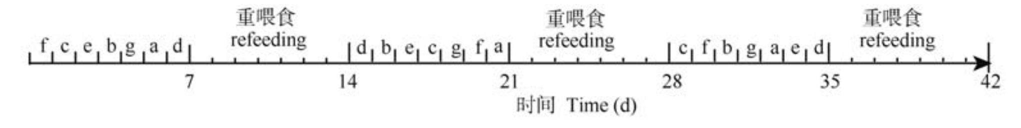


图 1　KM 小鼠 SFR-Re 实验方案

Figure 1　Timeline showing which days stochastic food restriction occurred in KM mice

a, b, c, d, e, f: 分别为饲喂自由摄食量的 0%,20%,40%,60%,80%和 100%; g: 自由取食。

a, b, c, d, e, f: 0%, 20%, 40%, 60%, 80%, 100% of initial food intake; g: *ad libitum* feeding.

1.2　体重与摄食量

每天 16：30 — 17：00 测定小鼠体重和摄食量，并根据限食计划，为其添加已知量的食物。于驯化前测定其自由取食条件下的摄食量，并据此计算自由摄食量的 20%、40%、60%、80%和 100%作为限食当日的食物投放量。

1.3　行为观测

在第 3 次 SFR-Re 驯化过程中，于 18：00—22：00 用远红外摄像头（SONY，420 TV line）观测动物行为，数据自动记录于与其相连的计算机，通过回放观察分析。根据 Speakman et al（2001）的方法将行为分为 4 类：（1）一般活动行为，指动物在饲

养笼内行走、攀爬和跳跃等；（2）摄食行为，指取食而非饮水；（3）修饰行为，指动物的自我修饰，如舔舐皮毛等；（4）休息行为，指任何非活动行为（Speakman et al，2001；Zhao et al，2009a，b）。记录每一种行为的持续时间（min），并计算此种行为占总观测时间的百分率。

1.4 代谢率及非颤抖性产热

驯化结束后，于 10：00—16：00 以封闭式流体压力呼吸计法测定 BMR 和 NST（具体参照 Wang et al，2000；Zhao et al，2009a，b）。BMR 测定温度为（30±1）℃（热中性区温度，Zhang et al，2007）。动物饥饿 4 h 后放入呼吸室适应 1 h，待动物稳定后开始记录，每隔 5 min 记录一次，连续测定 60 min，选取两个连续稳定的最低值计算 BMR。NST 采用皮下注射与动物体重相应剂量的去甲肾上腺素（NE，上海禾丰制药有限公司，批号：111102）诱导（Heldmaier，1971；Wang & Wang，2006），NE 剂量根据公式 NE（mg/kg）=6.6×$Mb^{-0.458}$（g）（Heldmaier，1971）计算，测定温度为（25±1）℃（Wang & Wang，1990），测定方法同 BMR，连续测定 60 min，选取两个连续稳定的最高值计算 NST。

1.5 消化能（digestive energy intake，DEI）和消化率（digestibility）

在 SFR-Re 驯化的最后一周，以食物平衡法测定 DEI 和消化率（Zhao et al，2008）。计算方法参考 Grodzinski & Wunder（l975）及 Zhao et al（2008），摄入能（kJ/7d）=干物质摄入（g/7d）×食物能值（kJ/g）；DEI（kJ/7d）=GEl（kJ/7d）–粪便重量（g/7d）×粪便能值（kJ/g）；消化率（%）=（DEI / GEI）× 100%。

1.6 血清瘦素和身体成分

驯化结束后，断颈处死动物。取血，自然凝集 2 h，3 500 r/min 离心 30 min，吸取血清，并保存于–20 ℃备用。待所有样品收集完毕，用放射性免疫试剂盒（北方生物技术研究所，北京）测定血清瘦素含量。实验程序和步骤按照说明书进行，批内和批间变异系数均＜10%。分离心脏、肺、肝、肾和脾脏，剔除附着的结缔组织，称重（精确至1mg）。取出消化道，分离胃、小肠、大肠和盲肠，去除内容物，称重（精确至 1 mg）。分离睾丸周脂肪、腹部脂肪和皮下脂肪，合并称重（精确至1mg）。

1.7 BAT COX 和 UCP1

快速分离肩胛间 BAT，置于液氮，提取 BAT 线粒体蛋白（Zhao & Wang，2005），用分光光度计测定线粒体蛋白含量。COX 活性采用氧电极法（oxygraph electrode system，Hansatech，UK）测定（Sundin et a1，l978；Zhao & Wang，2005）。UCP1 采用 Western blotting 技术测定，上样量为 10 μL。电泳结束后将蛋白转移至硝酸纤维素膜（Hybond-C，PALL，Gelman，USA），加入一抗（Thermo Scientific，USA），室温孵育 2 h 后，加入辣根过氧化酶标记的二抗（碧云天生物技术研究所），室温孵育1 h。采用 ECL 荧光检测试剂盒（ECL，Amersham Biosciences，England）检测 UCP1 蛋白的荧光带（Zhao & Wang，2005；Zhao et al，2008）。

1.8 统计分析

数据处理采用 SPSS 13.0 软件包。SFR-Re 驯化过程中体重、摄食量及行为活动的变化以重复测量的方差分析法（repeated one-way ANOVA）统计分析。体重、摄食量、DEI、消化率、血清瘦素、BAT COX 活性以及 UCP1 含量组间差异以独立样本 *t*-检验进行分析。SFR-Re 对 BMR、NST 以及身体成分的影响以单因素协方差分析法（ANCOVA）进行分析，以体重或者胴体重为协变量。数据均以 mean±*SE* 表示，$P<0.05$ 为差异显著，$P<0.01$ 为差异极显著。

2 结 果

2.1 体 重

实验前动物体重组间差异不显著（d 0，t_{21}= 0.3，$P>0.05$，图 2A），驯化期间对照组小鼠体重持续增长（d 1~42，$F_{41,369}$=113.0，$P<0.01$），而 SFR-Re 组体重显著波动，随机限食期间体重显著降低，最低为（29.4±0.7）g，低于对照组 26.6%（d 7，t_{21}=10.2，$P<0.01$），重喂食后体重显著增加（d 1~42，$F_{41,492}$=183.0，$P<0.01$）。驯化结束后对照组和 SFR-Re 组体重分别为（46.0±0.7）g 和（46.9±0.7）g，组间差异不显著（d 42，t_{21}=0.9，$P>0.05$，图 2A）。

2.2 摄食量、DEI 和消化率

实验前对照组和 SFR-Re 组摄食量分别为（5.8±0.2）g/d 和（5.9±0.2）g/d（d 0，t_{21}=0.4，$P>0.05$，图 2B）。SFR-Re 组小鼠在重喂食期间摄食量显著增加，最大摄食量为 13.7 g/d，高于对照组 123.5%（d 22，t_{21}=11.7，$P<0.01$），重喂食后期摄食量逐渐回落至对照组水平（d 42，t_{21}=1.0，$P>0.05$）。SFR-Re 组 DEI 高于对照组 49.7%（t_{21}=9.6，$P<0.01$，图 3A），且消化率也显著高于对照组（t_{21}=7.6，$P<0.01$，图 3B）。

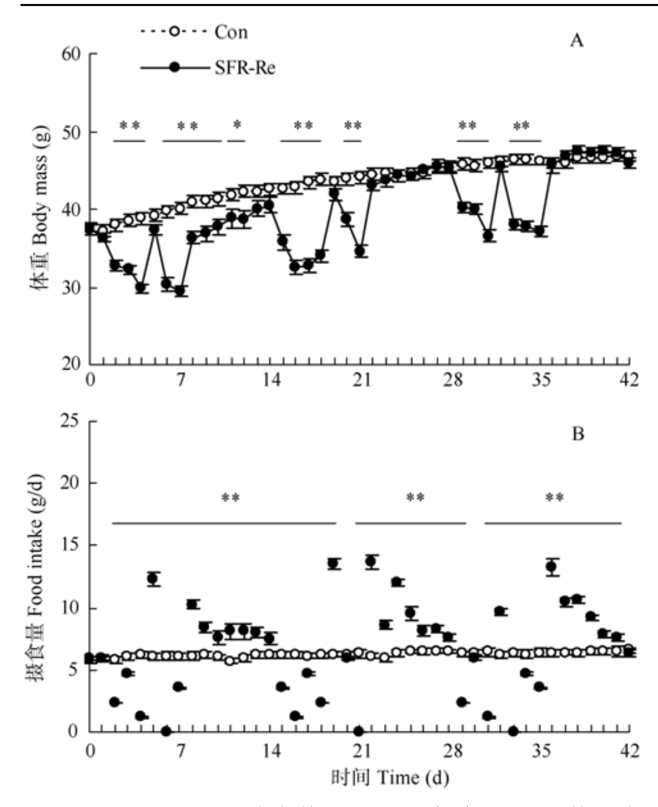


图 2　SFR-Re 对 KM 小鼠体重（A）和摄食量（B）的影响
Figure 2　Body mass (A) and food intake (B) changes of KM mice subjected to SFR-Re
Con：对照组; SFR-Re：随机限食和重喂食组。
Con: control mice; SFR-Re: mice subjected to three cycles of stochastic food restriction and refeeding.
*：P<0.05；**：P<0.01.

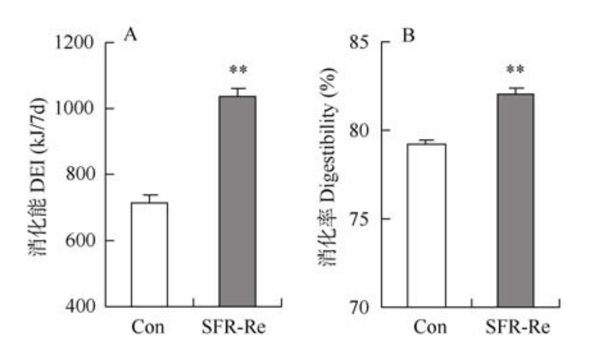


图 3　SFR-Re 对 KM 小鼠 DEI（A）和消化率（B）的影响
Figure 3　DEI (A) and digestibility (B) of KM mice subjected to SFR-Re
**: P<0.01.

2.3　行为

与对照组相比，SFR-Re组小鼠的活动行为、摄食、修饰和休息行为均表现显著变化（活动，$F_{8,81}$=37.2，P<0.01；摄食，$F_{8,81}$=58.2，P<0.01；修饰，$F_{8,81}$=6.3，P<0.01；休息，$F_{8,81}$=6.2，P<0.01）(图4)。20%、40%和60%限食使活动行为显著增加，休息行为显著降低（*Post hoc*，P<0.05）；80%和100%限食不影响活动行为和休息行为（*Post hoc*，P>0.05）。重喂食后动物的活动行为也显著高于对照组（*Post hoc*，P<0.05）。

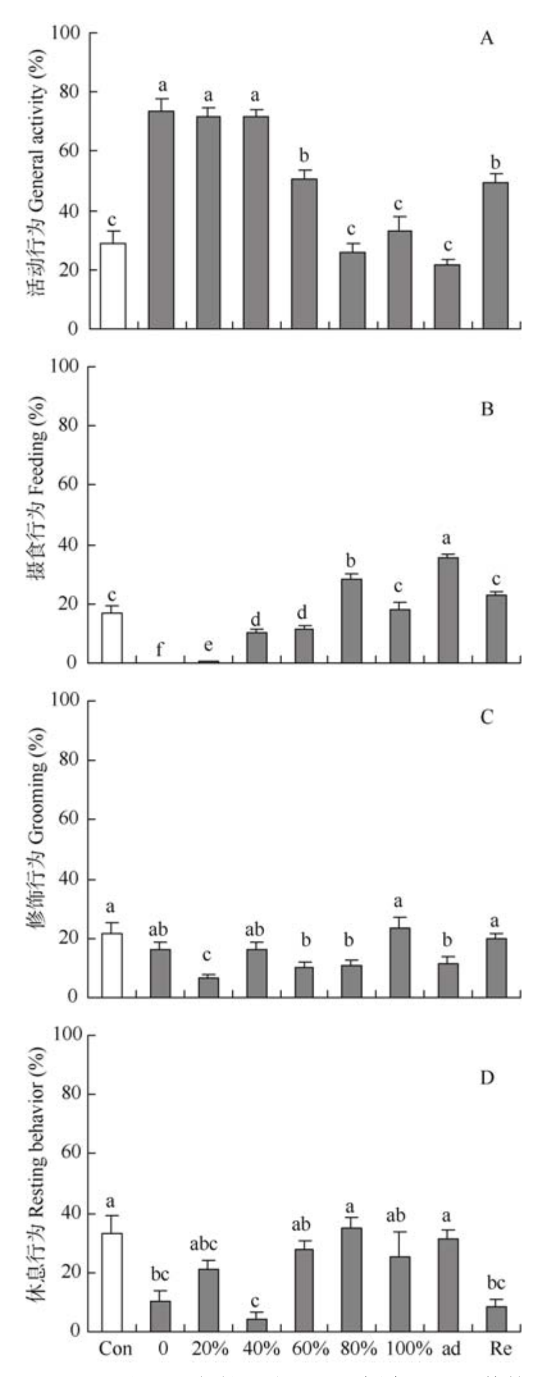


图 4　SFR-Re 对 KM 小鼠活动（A）、摄食（B）、修饰（C）和休息行为（D）的影响
Figure 4　General activities (A), feeding (B), grooming (C) and resting behaviors (D) of KM mice subjected to SFR-Re
Con：对照组; 0, 20%, 40%, 60%, 80%, 100%：分别代表饲喂自由摄食量的 0%, 20%, 40%, 60%, 80%, 100%; ad：自由取食；Re：重喂食；不同字母表示组间差异显著（P<0.05）。
Con: control mice; 0, 20%, 40%, 60%, 80%, 100%：0, 20%, 40%, 60%, 80% and 100% of initial food intake; ad: *ad libitum* feeding; Re: refeeding; Different letters indicate significant difference level (P<0.05).

2.4　BMR、NST 和 BAT COX 活性以及 UCP1 含量

驯化结束后，SFR-Re 组的 BMR 显著高于对照组（$F_{1,17}$=28.9，P<0.01，图 5）。NST_{max} 的组间差异不显著（$F_{1,17}$=28.9，P=0.2），但 SFR-Re 组的 NST 高于对照组 31.9%（$F_{1,17}$=12.1，P<0.01，图 5）。限食和重喂食对 BAT 线粒体蛋白含量的影响不显著（（t_{18}=0.4，P>0.05，图 6A）。SFR-Re 组 COX 活性低于对照组，但组间差异不显著（t_{18}=1.9，P=0.07，图 6B）。SFR-Re 组的 UCP1 含量显著低于对照组（t_{18}=3.1，P<0.05，图 6C，D）。

2.5　身体成分和血清瘦素

SFR-Re 组的脂肪重量高于对照组 46.7%，肝脏重量显著高于对照组，胃、小肠和盲肠分别高于对照组 29.7、63.0 和 33.7%，而血清瘦素的组间差异不显著（表 1）。

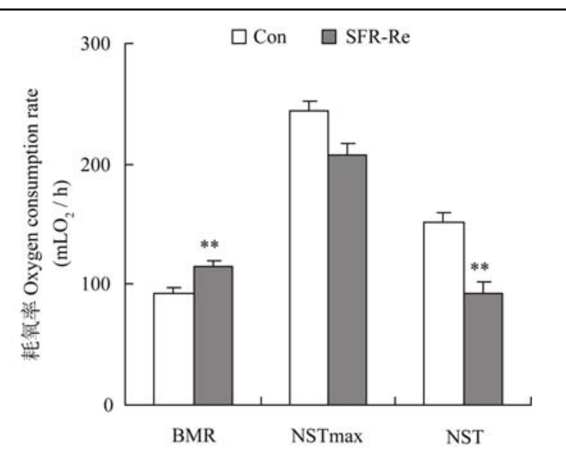


图 5　SFR-Re 对 KM 小鼠 BMR、NST_{max} 和 NST 的影响
Figure 5　BMR, NST_{max} and NST in KM mice subjected to cycles of SFR-Re
**：P<0.01.

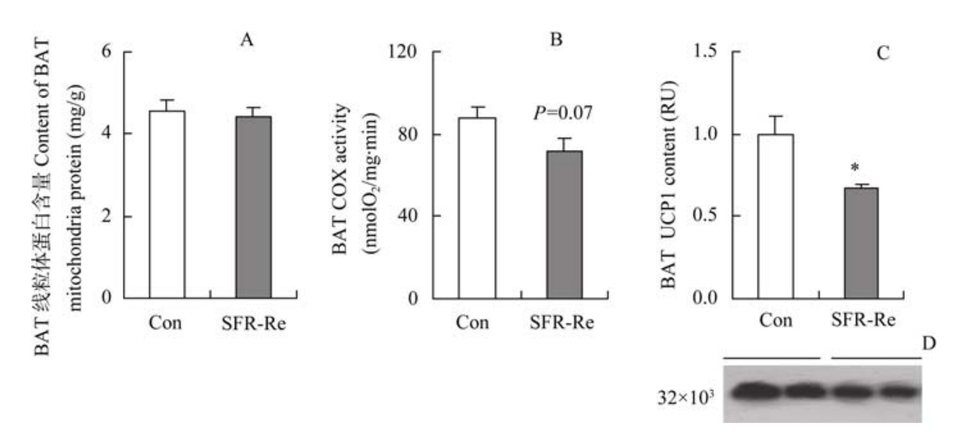


图 6　SFR-Re 对 KM 小鼠 BAT 线粒体蛋白含量（A）、COX 活性（B）和 UCP1 含量（C，D）的影响
Figure 6　BAT mitochondrial protein content (A), COX activity (B) and UCP1 content (C, D) of KM mice subjected to SFR-Re
*: P<0.05.

表 1　SFR-Re 对 KM 小鼠身体成分和血清瘦素水平的影响

Table 1　Body compositions and serum leptin levels of KM mice subjected to SFR-Re

	Con	SFR-Re	*F*	*P*
脂肪重量 Fat pads（mg）	989±122	1449±114	8.1	**
BAT（mg）	109±5	101±4	0.9	ns
肝脏 Liver（mg）	2511±70	2940±100	8.4	**
心脏 Heart（mg）	211±6	224±8	2.0	ns
肺脏 Lung（mg）	251±17	280±10	3.1	0.09
脾脏 Spleen（mg）	129±11	123±5	0.1	ns
肾脏 Kidneys（mg）	631±25	613±17	0.1	ns
胃 Stomach（mg）	307±12	399±13	24.1	**
小肠 Small intestine（mg）	1483±117	2418±131	25.0	**
大肠 Large intestine（mg）	468±35	499±20	1.5	ns
盲肠 Caecum（mg）	253±17	338±25	5.4	*
血清瘦素 Serum leptin levels（ng/mL）	2.3±0.2	2.5±0.1	1.0	ns

ns: P>0.05; *:P<0.05; **:P<0.01.

3 讨 论

体重调节受食物可利用性变化的影响，限食使许多动物的体重和脂肪含量显著降低（Sohar & Sneh，1973；Weindruch & Sohal，1997；Yang et al，2013）。本文也发现随机限食使KM小鼠体重显著降低。此外，限食50%和75%的大鼠体重也显著降低（Hill et al，1985；Sucajtys-Szulc et al，2008）。然而，限食80%的MF1小鼠体重未降低（Hambly & Speakman，2005）。可见限食对不同物种的体重影响并不完全一致（Hill et al，1985；Sucajtys-Szulc et al，2008），动物对限食的反应可能存在种间差异，也可能与限食程度有关，一般情况下，严厉限食驯化使动物体重降低幅度更大（Cao et al，2009）。重喂食后KM小鼠体重反弹，随后恢复至对照组水平，表现体重的“补偿性增长”。与我们的研究结果相似，SFR-Re大鼠体重亦出现“补偿性增长”，迅速恢复至对照组水平（Cleary，1986a，b；Szepesi & Epstein，1977；）。身体成分分析发现，3次SFR-Re驯化后的KM小鼠的脂肪重量、肝脏和消化道重量均显著高于对照组，暗示经历食物短缺后，在食物资源丰富时，动物将增加身体脂肪的能量贮存。消化道形态的适应性调节以及消化功能相关器官重量的显著增加，暗示消化吸收功能增强，消化效率提高，是动物体重“补偿性增长”的可能原因之一。

能量代谢的适应性调节是小型哺乳动物应对环境变化的主要生存策略（Hambly & Speakman，2005；Zhang & Wang，2008）。我们发现，KM小鼠在恢复自由取食后摄食量显著增加，最大摄食量增加至对照组的2.2倍。与本文研究结果相似，禁食后重喂食的KM小鼠也显著增加摄食量（Cao et al，2009；Zhao & Cao，2009；Zhao et al，2009a，b）。间断限食和重喂食也使实验大鼠摄食量显著增加（Cleary，1986b）。限食50%的金色刺毛鼠在恢复自由取食后摄食量也显著增加（Gutman et al，2006）。这些结果提示，在食物资源丰富的条件下，动物通过增加摄食量弥补限食导致的能量摄入不足，以尽快恢复能量收支平衡（Gutman et al，2006；Zhao et al，2009a，b）。SFR-Re后的KM小鼠DEI显著高于对照组，消化率显著增加（Zhao et al，2009a），同样，SFR-Re驯化后的大鼠消化率也显著增加（Archambault et al，1989）。即食物资源丰富时，动物通过增加摄食量，提高食物利用效率而加大能量摄入，这可能也是导致体重和脂肪“补偿性增长”的重要因素之一。

BMR、NST和活动行为的能量支出在能量代谢和体重调节中发挥重要作用（Hambly & Speakman，2005；Zhao et al，2008）。本研究中，SFR-Re驯化的KM小鼠降低了NST、BAT COX活性和UCP1含量，表明SFR-Re导致用于产热的能量支出显著降低。然而，我们发现SFR-Re导致KM小鼠的BMR显著增加，肝脏、胃、小肠和盲肠重量均显著高于对照组。研究表明，这些器官的能量代谢率水平较高，属于“代谢活性器官”，与BMR具有显著的正相关关系（Song & Wang，2006）。由此可见，增加的BMR可能主要用于维持代谢活性器官的功能。

SFR-Re显著影响KM小鼠的活动行为，低程度的限食使活动行为降低，而严厉的限食使活动行为显著增加。与本文研究结果相似，食物限制使大鼠（Boakes & Dwyer，1997）、KM小鼠（Cao et al，2009；Zhao et al，2009a，b）和黑线仓鼠（Zhao & Cao，2009）的活动行为显著增加。然而，Hambly & Speakman（2005）发现80%限食使MF1小鼠的活动行为显著减低。这些结果表明，动物的活动行为对限食的反应不尽相同，可能与物种的差异性和限食程度有关，在低程度限食条件下，动物可能通过降低自身维持的能量支出（基础代谢率）和行为活动，补偿能量摄入的不足（Hambly & Speakman，2005）。而当动物面临较严厉的随机限食甚至禁食时，则可能试图增加搜索食物的活动行为或者迁移行为，以增加获得丰富食物资源的机会（Boakes & Dwyer，1997；Hambly et al，2007；Speakman & Mitchell，2011）。自由取食后，KM小鼠的活动行为仍高于对照组，这或许表明经历随机限食的个体在食物资源丰富时仍增加搜索食物的活动行为。恢复自由取食后摄食量的显著增加不仅用于体重的“补偿性增长”，也用于维持较高水平的BMR和活动行为。

瘦素在摄食和脂肪代谢调节过程中发挥重要作用（Friedman & Halaas，1998）。研究表明，限食使血清瘦素水平显著降低，重喂食后显著回升（Zhang & Wang，2008）。然而，本研究发现SFR-Re驯化的KM小鼠血清瘦素水平未出现显著变化，与其他研究报道的结果不尽一致，这可能与不同研究所采用的限食处理方式不同有关。在先前的研究中，动物多采取固定比例的限食方法或者饥饿处理，然后恢复自由取食（Wisse et al，1999；Gutman

et al，2006；Zhang & Wang，2008）。而在本研究中，KM小鼠以SFR-Re方式驯化，动物不能预测食物资源的变化规律。当食物资源丰富时，经历不规则限食的动物显著增加摄食量，增加身体脂肪贮存，以提高应对可能再次发生的食物短缺时期（Zhao & Cao，2009）。多次SFR-Re驯化使KM小鼠显著增加脂肪贮存，与自由取食的对照组动物相比增加了46.5%（P<0.01）。而SFR-Re动物的血清瘦素仅增加8.7%（P>0.05），表明重喂食后动物较迅速的增加脂肪组织重量，但并未按比例增加瘦素的合成和分泌。瘦素具有抑制摄食和促进能量支出的作用（Friedman & Halaas，1998）。重喂食后瘦素未显著增加，暗示其减弱了对摄食量的控制作用，从而准许动物在食物资源丰富时增加摄食量。

SFR-Re 对 KM 小鼠的体重、摄食量和能量支出影响显著。随机限食使体重显著降低，重喂食后体重增加，表现体重的“补偿性增长”。重喂食后摄食量和消化率显著增加，脂肪组织重量、肝脏和胃肠道重量显著高于对照组。即经历随机限食的动物在食物资源丰富时增加脂肪组织的能量贮存，体重和脂肪组织“补偿性增长”。消化率的增加有利于体重的“补偿性增长”。随机限食和重喂食显著降低了 NST、BAT COX 活性和 UCP1 蛋白水平，表明产热能量支出显著降低，这也是动物体重“补偿性增长”的能量学对策之一。血清瘦素水平未显著增加，减弱了对摄食量的控制，从而准许动物增加摄食量，最终导致体重的“补偿性增长”。

参考文献：

Alvarenga TAF, Andersen ML, Papale LA, Antunes IB, Tufik S. 2005. Influence of long-term food restriction on sleep pattern in male rats. *Brain Research,* **1057** (1-2): 49-56.

Archambault CM, Czyzewski D, Cordua Y, Cruz GD, Foreyt JP, Mariotto MJ. 1989. Effects of weight cycling in female rats. *Physiology and Behavior,* **46** (3): 417-421.

Boakes RA, Dwyer DM. 1997. Weight loss in rats produced by running:Effects of prior experience and individual housing. *Journal of Experimental Psychology,* **50** (2): B129-B148.

Cao J, Zhang LN, Zhao ZJ. 2009. Trade-off between energy budget, thermogenesis and behavior in Swiss mice under stochastic food deprivation. *Journal of Thermal Biology,* **34** (6): 290-298.

Cleary MP. 1986a. Consequences of restricted feeding/refeeding cycles in lean and obese female Zucker rats. *Journal of Nutrition,* **116**:290-303.

Cleary MP. 1986b. Response of adult lean and obese female Zucker rats to intermittent food restriction/refeeding. *Journal of Nutrition,* **116** (8): 1489-1499.

Friedman JM, Halaas JL. 1998. Leptin and the regulation of body weight in mammals. *Nature,* **395** (6074): 763-770.

Grodzinski W, Wunder BA. 1975. Ecological energetics of small mammals // Small Mammls: Their Productivity and Population Dynamics. Cambridge:Cambridge University Press, 173-204.

Gutman R, Choshniak I, Kronfeld-Schor N. 2006. Defending body mass during food restriction in *Acomys russatus*: a desert rodent that does not store food. *American Journal of Physiology,* **290** (4): R881-R891.

Hambly C, Mercer JG, Speakman JR. 2007. Hunger does not diminish over time in mice under protracted caloric restriction. *Rejuvenation Research,* **10** (4): 533-542.

Hambly C, Speakman JR. 2005. Contribution of different mechanisms to compensation for energy restriction in the mouse. *Obesity Research,* **13** (9): 1548-1557.

Heldmaier G. 1971. Nonshivering thermogenesis and body size in mammals. *Journal of Comparative Physiology,* **73** (2): 222-247.

Hill JO, Latiff A, DiGirolamo M. 1985. Effects of variable caloric restriction on utilization of ingested energy in rats. *American Journal of Physiology,* **248** (5): R549-R559.

Sohar E, Sneh E. 1973. Follow-up of obese patients 14 years after a successful reducing diet. *American Journal of Clinical Nutrition,* **26** (8): 845-848.

Song ZG, Wang DH. 2006. Basal metabolic rate and organ size in Brandt's voles (*Lasiopodomys brandtii*): Effects of photoperiod, temperature and diet quality. *Physiology and Behavior,* **89** (5): 704-710.

Speakman JR, Hambly C. 2007. Starving for life:What animal studies can and cannot tell us about the use of caloric restriction to prolong human lifespan. *Journal of Nutrition,* **137**:1078-1086.

Speakman JR, Mitchell SE. 2011. Caloric restriction. *Molecular Aspects of Medicine,* **32** (3): 159-221.

Speakman JR, Gidney A, Bett J, Mitchell IP, Johnson MS. 2001. Limits to sustained energy intake IV. Effect of variation in food quality on lactating mice *Mus Musculus*. *Journal of Experimental Biology,* **204** (11): 1957-1965.

Sucajtys-Szulc E, Goyke E, Korczynska J, Stelmanska E, Rutkowski B, Swierczynski J. 2008. Chronic food restriction differentially affects NPY mRNA level in neurons of the hypothalamus and in neurons that innervate liver. *Neuroscience Letters,* **433** (3): 174-177.

Sundin U, Moore G, Nedergaard J, Cannon B. 1978. Thermogenin amount and activity in hamster brown fat mitochondria:effect of cold acclimation. *American Journal of Physiology,* **252** (5): 822-832.

Szepesi B, Epstein MG. 1977. Effect of repeated food restriction-refeeding on growth rate and weight. *The American Journal of Clinical Nutrition,* **30** (10): 1692-1702.

Wang DH, Wang ZW. 1990. Strategies for survival of small mammals in a cold alping environment II. Seasonal changes in the capacity of

nonshivering thermogenesis in *Ochotona curzoniae* and *Microtus oeconomus*. *Acta Theriologica Sinica,* **10** (1): 40-53. [王德华, 王祖望. 1990. 小哺乳动物在高寒环境中的生存对策Ⅱ. 高原鼠兔和根田鼠非颤抖性产热 (NST) 的季节性变化. 兽类学报, **10** (1): 40-53.]

Wang DH, Wang YS, Wang ZW. 2000. Metabolism and thermoregulation in the Mongolian gerbil (*Meriones unguiculatus*). *Acta Theriologica,* **45**:183-192.

Wang JM, Wang DH. 2006. Comparison of nonshivering thermogenesis induced by dosages of norepinephrine from 3 allometric equations in Brandt's voles (*Lasiopodomys brandtii*). *Acta Theriologica Sinica,* **26** (1): 84-88. [王建梅, 王德华. 2006. 不同去甲肾上腺素剂量下布氏田鼠非颤抖性产热比较. 兽类学报, **26** (1): 84-88.]

Weindruch R, Sohal RS. 1997. Caloric intake and aging. *New England Journal of Medicine,* **337** (14): 986-994.

Wisse BE, Campfield LA, Marliss EB, Morais JA, Tenenbaum R, Gougeon R. 1999. Effect of prolonged moderate and severe energy restriction and refeeding on plasma leptin concentrations in obese women. *American Journal of Clinical Nutrition,* **70** (3): 321-330.

Yang CS, Zhu WL, Huang CM, Yu TT, Gao WR, Wang ZK. 2013. Effects of food restriction on energy metabolism in male *Eothenomys miletus*. *Acta Theriologica Sinica,* **33** (1): 55-62. [杨盛昌, 朱万龙, 黄春梅, 余婷婷, 高文荣, 王政昆. 2013. 食物限制对雄性大绒鼠能量代谢特征的影响. 兽类学报, **33** (1): 55-62.]

Zhang LN, Wang DH. 2008. Effects of food restriction and refeeding on energy balance regulation in Mongolian gerbils (*Meriones unguiculatus*) . *BFDG Appetite,* **51** (3): 751-764.

Zhang ZH, Cheng FH, Yu HC. 2007. Effect of different temperatures on the energy metabolism of mice. *Journal of Agricultural Sciences,* **28** (3): 18-20. [张振汉, 程富华, 于洪川. 2007. 不同温度对小鼠能量代谢的影响. 农业科学研究, **28** (3): 18-20.]

Zhao ZJ, Wang DH. 2005. Short photoperiod enhances thermogenic capacity in Brandt's voles. *Physiology and Behavior,* **85** (2): 143-149.

Zhao ZJ, Wang DH. 2006. Short photoperiod influences energy intake and serum leptin level in Brandt's voles (*Microtus brandtii*) . *Hormones and Behavior,* **49** (4): 463-469.

Zhao ZJ, Cao J. 2009. Plasticity in energy budget and behavior in Swiss mice and striped hamsters under stochastic food deprivation and refeeding. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A:Molecular & Integrative Physiology,* **154** (1): A84-A91.

Zhao ZJ, Cheng JF, Wang DH. 2008. Effects of photoperiod and high fat diet on energy intake and thermogenesis in Brandt's voles *Lasiopodomysbrandtii*. *Acta Zoologica Sinica,* **54** (4): 576-589. [赵志军, 陈竞峰, 王德华. 2008. 光周期和高脂食物对布氏田鼠能量代谢和产热的影响. 动物学报, **54** (4): 576-589.]

Zhao ZJ, Wang RR, Cao J, Pei LY. 2009c. Effect of random food deprivation and refeeding on energy budget and development in mice. *Zoological Research,* **30** (5): 534-538. [赵志军, 王瑞瑞, 曹静, 裴兰英. 2009c. 随机限食和重喂食小鼠能量收支和生长发育的可塑性. 动物学研究, **30** (5): 534-538.]

Zhao ZJ, Cao J, Tian Y, Wang RR, Wang GY. 2009a. Effects of stochastic food deprivation on energy budget, body mass and activity in Swiss mice. *Current Zoology,* **55** (4): 249-257.

Zhao ZJ, Cao J, Wang GY, Ma F, Meng XL. 2009b. Effect of random food deprivation and re-feeding on energy metabolism and behavior in mice. *Acta Theriologica Sinica,* **29** (3): 277-285. [赵志军, 曹静, 王桂英, 马飞, 孟喜龙. 2009a. 随机饥饿和重喂食对小鼠能量代谢和行为的影响. 兽类学报, **29** (3): 277-285.]

Zhao ZJ, Liu JJ, Zhang H, Yu R, Zhao YL. 2011. Body mass and behavior in Swiss mice subjected to continuous or discontinuous food restriction and refeeding. *Acta Theriologica,* **56** (2): 129-139.

动　物　学　研　究　2013，Dec. 34(6): 582−588　　CN 53-1040/Q　ISSN 0254-5853
Zoological Research　　DOI:10.11813/j.issn.0254-5853.2013.6.0582

氯胺酮和乌拉坦对猫视皮层细胞中刺激诱导的 c-fos 表达的影响

王　珂，朱　慧，陈翠云，李　鹏，金彩虹，王紫露，姜　三，华田苗*

安徽师范大学 生命科学学院，安徽 芜湖 241000

摘要：氯胺酮（ketamine）和乌拉坦（urethane）对神经细胞活动的影响大小和机制尚存在争议。*c-fos* 是刺激依赖表达的立早基因（immediate early genes），其表达量可反应神经细胞活动的强弱。该研究通过免疫组织化学方法比较观察乌拉坦和盐酸氯胺酮急性麻醉对猫初级视皮层细胞中刺激依赖的 c-fos 蛋白表达的影响。结果显示，氯胺酮组和乌拉坦组初级视皮层各层神经元密度与对照组无显著差异；乌拉坦组视皮层 c-fos 蛋白免疫阳性细胞密度和免疫反应强度与对照组无显著差异；而盐酸氯胺酮组视皮层细胞中 c-fos 蛋白免疫阳性细胞密度及免疫反应强度均显著降低。即氯胺酮对视皮层细胞反应的抑制作用较强，而乌拉坦的抑制作用不显著。

关键词：氯胺酮；乌拉坦；初级视皮层；视觉刺激；c-fos 蛋白表达
中图分类号：Q344[+].13　　**文献标志码**：A　　**文章编号**：0254-5853-(2013)06-0582-07

Effects of ketamine and urethane on stimulation-induced c-fos expression in neurons of cat visual cortex*

Ke WANG, Hui ZHU, Cui-Yun CHEN, Peng LI, Cai-Hong JIN, Zi-Lu WANG, San JIANG, Tian-Miao HUA*

College of Life Sciences, *Anhui Normal University*, *Wuhu* 241000, *China*

Abstract: The effects of ketamine and urethane on neuronal activities remain in debate. As a member of immediate early genes family, the expression of c-fos is stimulation dependent and could be treated as an index to evaluate the strength of neural activities. In this study, SABC immunohistochemical techniques were applied to compare the c-fos expression in neurons of the primary visual cortex (V1) of cats and therefore, to evaluate the effects of acute anesthesia with ketamine HCl and uethane on inhibiting neural activities. Our results showed that compared with control cats, there were no significant differences with the average densities of Nissl-stained V1 neurons in each cortical layers of either urethane or ketamine anesthetized cats. In urethane anesthetized cats, neither the average densities nor the immunoreactive intensities of c-fos positive V1 neurons showed significant difference with that of control ones. However, both the average densities and immunoreactive intensities of c-fos positive V1 neurons in ketamine anesthetized cats decreased significantly compared with that of control and urethane anesthetized cats. These results suggested that ketamine has strong inhibitory effects on the activities of visual cortical neurons, whereas urethane did not.

Keywords: Ketamine; Urethane; Primary visual cortex; Visual stimulation; c-fos protein expression

麻醉剂通过影响神经系统神经元和胶质细胞的活动而达到镇静效应。氯胺酮（ketamine）和乌拉坦（urethane）是临床手术和动物实验中常用的麻醉诱导和维持剂，探讨其对神经系统活动的影响及作用机制对临床实践中麻醉剂的选择和神经科学研究设计均有重要的理论和实际价值。研究显示，氯胺酮和乌拉坦对中枢神经系统神经元活动可能有相似的影响，表现为对 N-甲基-D-天冬氨酸（NMDA）受体活动的抑制和对 γ-氨基丁酸 a 型（GABAa）受体活动的增强（Hara & Harris, 2002; Jin et al, 2013; McCardle & Gartside, 2012）。但视觉皮层的电生理研究结果显示，正常的乌拉坦麻醉剂量对单个神经元的自发和诱发放电活动无明显影响或影响微小（Peng et al, 2011; Sceniak & Maciver, 2006），仅在高剂量时产生抑制作用，且作用机制可能与氯胺酮不同（Sceniak & Maciver, 2006）。导

收稿日期：2013-06-25；接受日期：2013-08-27
基金项目：国家自然科学基金（31171082）；安徽省教育厅重点项目（KJ2009A167）；安徽省学术与技术带头人后备人选学术科研活动经费
*通信作者（Corresponding author），E-mail: tmhua@mail.ahnu.edu.cn

致以上结果不一致的重要原因可能与麻醉剂作用的物种和脑区有关（Xu et al, 2000, 2001）。为进一步探讨其作用机制，本研究通过比较观察氯胺酮和乌拉坦急性麻醉对猫初级视皮层神经元活动的影响，证实两者在不同物种和脑区间的效应差异。

近期研究显示，氯胺酮对中枢神经系统可能具有抑制和兴奋双重作用。它既可通过阻断 NMDA 谷氨酸受体来抑制神经元对刺激的反应（Jin et al, 2013），又可通过结合非 NMDA 受体和类阿片受体以增加神经元的兴奋性活动（Höffken et al, 2013; Howland, 2013; Kochs & Bischoff, 1994; Patel & Chapin, 1990）。氯胺酮对视皮层神经元的活动是以抑制还是兴奋为主以及作用的机制目前仍鲜见报道。

c-fos 是刺激依赖表达的立早基因（immediate early genes），在正常生理情况下处于低表达状态（Nakadate et al, 2012），在缺氧、光、机械和疼痛等刺激作用下该基因快速、大量表达，其表达量可作为衡量相关神经元被激活的指标之一（Filipkowski, 2000; Marchant & Morin, 2001; Poveda & Kretz, 2009; Van der Gucht et al, 2005）。该基因编码的 fos 蛋白可与 jun 蛋白结合后作为第三信使进入胞核，调节靶基因转录，从而使刺激信号与基因表达偶联，参与某些生理及病理活动的调节。

本研究采用免疫组织化学方法比较盐酸氯胺酮和乌拉坦急性麻醉对猫初级视皮层中c-fos蛋白免疫阳性神经元密度及c-fos蛋白免疫反应强度的影响，以评价两种麻醉剂对视皮层神经元活动的影响程度。另外，通过相应切片的尼氏（Nissl）染色来确定初级视皮层各层的界限，并统计各层神经元的密度，以排除神经元密度在实验组和对照组间可能存在的差异性。

1　材料与方法

1.1　实验动物及组织取材

实验用9例健康雄性猫（2~3 a, 2~2.5 kg），均购自芜湖市郊农贸市场，经检查无影响视力的折光系统和视网膜疾病。实验操作遵守国家健康中心关于实验动物照料和使用的准则。

实验猫随机分为3组，即盐酸氯胺酮（福建古田药业有限公司，国药准字H35020148）组、乌拉坦（曹杨第二中学化工厂，批号870530）组和对照组（注射生理盐水）各3只，黑暗饲养24 h，以使视皮层细胞的*c-fos*表达降至最低水平。红外光下实施麻醉剂肌肉注射，盐酸氯胺酮组基础剂量为40 mg/kg，乌拉坦组为50 mg/kg，至眨眼和缩腿反射消失为止，对照组注射剂量相当的生理盐水；麻醉完成后，将猫置于自然光下，以硫酸阿托品扩瞳，强闪光刺激双眼1 h；等待1 h后，将实验组和对照组猫深麻醉后开胸，经升主动脉依次灌注生理盐水及0.1 mol/L PBS缓冲液（pH 7.2~7.4，200 mL/kg，含4%多聚甲醛及2.5%戊二醛）；开颅取全脑固定2 h，分离两侧初级视皮层并移入固定液（含4%多聚甲醛、2.5%戊二醛和30%蔗糖）中固定至组织沉底；制作连续冠状冰冻切片，厚40 μm，每隔10张切片取3张为一组，分别用于c-fos蛋白免疫组织化学标记、阴性对照和尼氏染色，每例取相应位置的10组切片进行细胞计数和数据分析。

1.2　尼氏染色与 c-fos 免疫标记

0.5%甲苯胺蓝溶液用于尼氏染色，以确定皮层分层并统计各层神经元密度。

常规c-fos蛋白免疫标记分别用3% H_2O_2、0.3% TritonX-100及5%胎牛血清处理，然后滴加c-fos一抗（兔抗鼠多克隆抗体，浓度为1:200，武汉博士德生物工程有限公司），4 ℃孵育24 h；PBS冲洗后滴加生物素标记二抗（羊抗兔lgG工作液，武汉博士德生物工程有限公司），室温孵育20 min；PBS冲洗后滴加三抗（链霉卵白素过氧化物酶工作液，武汉博士德生物工程有限公司SABC），室温孵育20 min；DAB显色，梯度酒精脱水，二甲苯透明，中性树胶封片，显微镜下观察。阴性对照以PBS液代替一抗进行孵育，其余步骤相同。

1.3　数据统计与分析

染色及免疫标记切片在Olympus BX-51显微镜下观察，用Image-Pro Express 6.0 图像分析软件进行图像采集，定量统计并分析尼氏染色的神经元密度、c-fos蛋白免疫阳性细胞密度和细胞光密度（IOD: integrated optical density）值。选取初级视皮层中部区域（皮层表面和白质几乎平行）进行定量统计。

每张尼氏染色切片在低倍镜下（×40）获取图像，在较高放大倍数下（×100）标出皮质各层次界限（I、II~III、IV、V、VI层），并随机选取10个视野测量皮质表面至各层上、下界限的垂直距离，取平均值作为相邻切片中皮质各层边界定位的依据。在高倍镜（×400）下分别于皮质各层选取10个视野（样方大小50 μm×50 μm）计数尼氏染色神经元和c-fos免疫阳性细胞数，取平均值并换算成细胞密度（cells/mm^2）。从每张免疫标记切片中随机选取80个c-fos阳性细胞，用图像分析软件测定光密度值，

取平均值代表免疫阳性细胞的免疫反应强弱。

所有数据用mean±*SD*表示，用SPSS13.0 统计软件进行组间数据差异性的ANOVA检验，$P<0.05$为差异具有统计学意义。

2 结 果

尼氏染色切片中，初级视皮层层次分明，神经元结构清晰，细胞形态、大小各异，胞体和突起呈蓝紫色或浅蓝色。

根据尼氏染色结果，猫初级视皮层可分为6层，从外向内依次为分子层（I）、外颗粒层（Ⅱ）、外锥体层（III）、内颗粒层（IV）、内锥体层（V）和多形层（VI）（图1A-C），与已有报道一致。

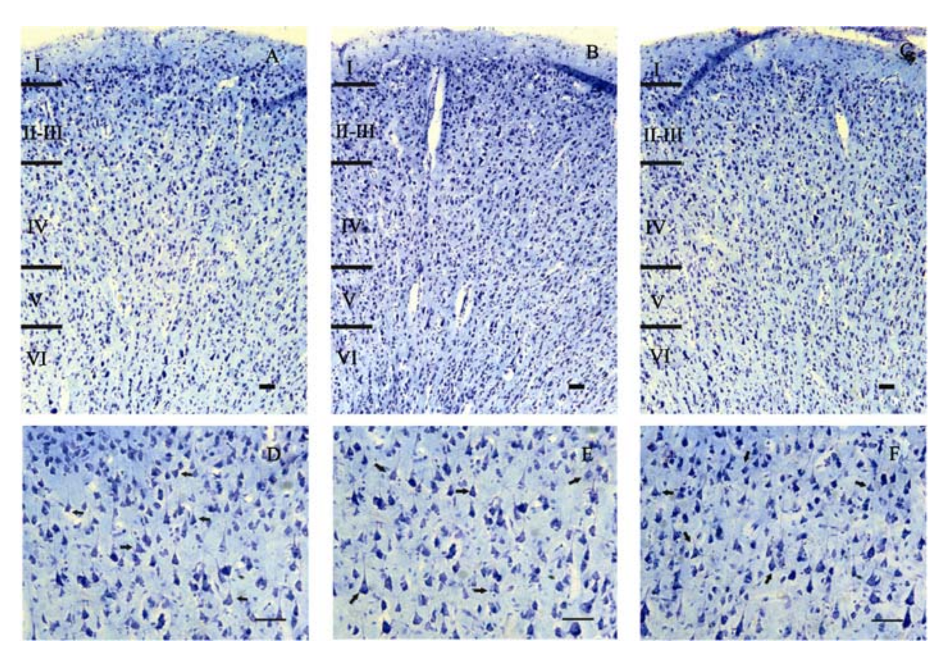


图 1 盐酸氯胺酮处理组（A，D）、乌拉坦处理组（B，E）及对照组（C，F）猫初级视皮层灰质各层的尼氏染色神经元

Figure 1 Nissl-stained neurons in each layers of the primary visual cortex in ketamine-treated (A, D）, urethane-treated (B, E) and control (C, F) cats

A~C：视皮层第 I、II-III、IV、V、VI 层；D~F：视皮层第 III 层椎体细胞。Scale bar=50 µm。

A−C: Layer I, II-III, IV, V and VI of visual cortex; D−F: Pyramidal cells in layer III of visual cortex. Scale bar=50 µm.

实验组和对照组视皮层中均分布有c-fos免疫阳性细胞，免疫阳性物质主要集中在细胞核区域，胞核呈褐色或棕褐色，神经元胞体及轴突、树突处染色较浅，呈棕色或浅棕色（图2A-I），符合c-fos免疫阳性反应特征。

2.1 神经元密度统计与分析

光镜下观察并统计实验组和对照组切片中初级视皮层灰质第I、II-III、IV、V、VI层的神经元密度。方差分析结果显示，各组内初级视皮层尼氏染色神经元密度存在显著层次差异（盐酸氯胺酮组：$F_{(4,\ 150)}=253.256$，$P<0.0001$；乌拉坦组：$F_{(4,\ 150)}=615.428$，$P<0.0001$；对照组：$F_{(4,\ 150)}=524.08$，$P<0.0001$）。表现为第I层尼氏染色神经元密度相对较低，第II-III、IV、V、VI层神经元密度相对较高；第IV层神经元密度相对低于第II-III、V和VI层，但第II-III、V、VI层之间的神经元密度无明显差异（表1）。神经元密度在组内个体间无显著差异（盐酸氯胺酮组：$F_{(2,\ 150)}=0.831$，$P=0.438$；乌拉坦组：$F_{(2,\ 150)}=0.615$，$P=0.542$；对照组：$F_{(2,\ 150)}=1.971$，$P=0.143$）。

多因素方差分析结果显示，初级视皮层各层的神经元密度在组间无显著差异（麻醉剂影响效应：$F_{(2,\ 450)}=2.323$，$P=0.099$；麻醉剂处理与个体交叉效应：$F_{(2,\ 450)}=0.344$，$P=0.848$；麻醉剂处理与皮层层次交叉效应：$F_{(4,\ 450)}=0.368$，$P=0.937$)（表1)，表明各实验组猫初级视皮层各层的神经元密度与对照组无显著差异。

2.2 c-fos 免疫阳性细胞密度统计与分析

各组实验猫初级视皮层灰质各层中均分布有呈褐色或棕褐色的c-fos免疫阳性神经元。其中，第I层分布较稀少，免疫阳性细胞体积很小，第IV层稍多，第II-III、V、VI层较密集，白质中未发现c-fos免疫阳性神经元。

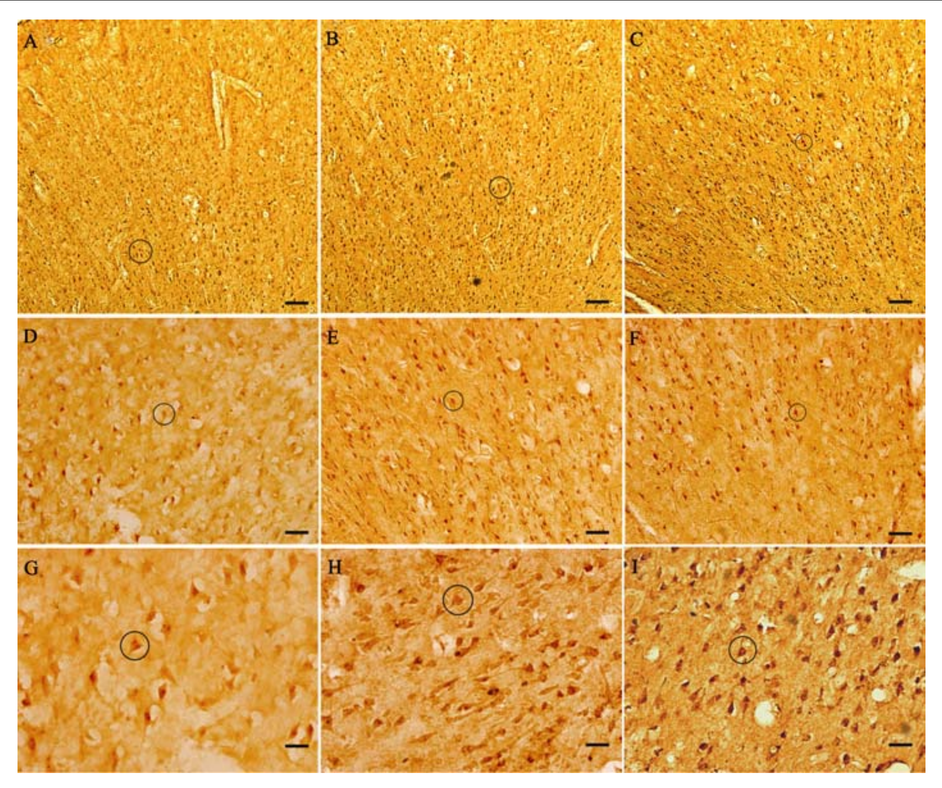


图 2　盐酸氯胺酮处理组（A，D，G）、乌拉坦处理组（B，E，H）和对照组（C，F，I）猫初级视皮层的 c-fos 免疫阳性神经元（圆圈指示）

Figure 2　c-fos immunoreactive neurons (as circles indicated) in primary visual cortex of ketamine-treated (A, D, G), urethane-treated (B, E, H) and control (C, F, I) cats

A～C：初级视皮层灰质冠状切面整体观（Scale bar=60 μm）；D～F：第 V/VI 层 c-fos 免疫阳性神经元，（Scale bar=25 μm）；G～I：第 V 层 c-fos 免疫阳性椎体细胞，（Scale bar=15 μm）。

A-C: Coronal view of the gray matters of the primary visual cortex (Scale bar=60 μm); D-F: c-fos positive neurons in layer V/VI of the primary visual cortex (Scale bar=25 μm); G-I: c-fos positive pyramidal neurons in layer V of the primary visual cortex (Scale bar=15 μm).

组内方差分析结果显示，各组实验猫初级视皮层c-fos免疫阳性神经元密度存在显著层次差异（盐酸氯胺酮组：$F_{(4,\ 150)}$=447.241，P<0.0001；乌拉坦组：$F_{(4,\ 150)}$=610.816，P<0.0001；对照组：$F_{(4,\ 150)}$=461.945，P<0.0001)，表现为第I层c-fos免疫阳性细胞密度相对较低，第II-III、IV、V、VI层c-fos免疫阳性细胞密度相对较高；第IV层c-fos免疫阳性细胞密度相对低于II-III、V、VI层，而II-III、V、VI层之间的免疫阳性细胞密度无明显差异（表1）。c-fos免疫阳性细胞密度在组内个体间无显著差异（盐酸氯胺酮组：$F_{(2,\ 150)}$=0.546，P=0.58；乌拉坦组：$F_{(2,\ 150)}$=0.851，P=0.429；对照组：$F_{(2,\ 150)}$=0.074，P=0.928）。

组间方差分析结果显示，盐酸氯胺酮组中初级视皮层各层c-fos免疫阳性细胞密度较乌拉坦组和对照组均显著降低［$F_{(1,\ 300)}$=16.389，P<0.0001；$F_{(1,\ 300)}$=18.856，P<0.0001]，乌拉坦组中c-fos免疫阳性神经元密度与对照组无明显差异［$F_{(2,\ 450)}$=0.733，P=0.393]（图2A-I；表1）。三组数据比较分析结果显示，乌拉坦对视皮层神经元c-fos蛋白表达无显著影响，而盐酸氯胺酮会显著抑制c-fos蛋白在视皮层各层的表达，与对照组相比，盐酸氯胺酮组中初级视皮层第I、II-III、IV、V、VI层c-fos免疫阳性细胞密度分别降低66.88%、45.38%、41.22%、27.06%和28.32%（表1）。

2.3　c-fos 蛋白免疫反应强度测量与分析

光镜下，盐酸氯胺酮组中c-fos蛋白免疫阳性神经元着色较浅，乌拉坦组和对照组c-fos阳性神经元着色较深。

对各层（主要包括第II-III、IV、V、VI层）内随机抽取的c-fos免疫阳性神经元进行平均光密度分析，结果显示，盐酸氯胺酮组平均光密度值较乌拉坦组和对照组均显著降低［$F_{(1,\ 60)}$=173.771，P<0.0001；$F_{(1,\ 60)}$=173.707，P<0.0001），降低程度分别为18.72%及19.41%。乌拉坦组c-fos免疫阳性反应强度与对照组相比无明显差异[$F_{(1,\ 60)}$=0.482，P=0.886]（图3）。

表 1 盐酸氯胺酮处理组（KC1-3）、乌拉坦处理组（UC1-3）及对照组（NC1-3）猫的初级视皮层第 I、II-III、IV、V、VI 层尼氏染色神经元和 c-fos 免疫阳性神经元密度

Table 1 Densities of Nissl-stained and c-fos immunoreactive neurons in layer I, II-III, IV, V and VI of the primary visual cortex in ketamine-treated (KC1-3), urethane-treated (UC1-3) and control (NC1-3) groups of cats

个体 Subject	皮层分层 Cortical layers				
	I	II-III	IV	V	VI
尼氏染色神经元密度 Densities of Nissl-stained neurons (cells/mm^2)					
KC1	396±135.3	1736±261.4	1524±196.4	1664±232.6	1696±258.7
KC2	416±98.3	1800±181.8	1568±160.9	1728±223.7	1756±165.9
KC3	384±177.1	1784±235.7	1592±153	1736±220.1	1696±228.8
UC1	432±129	1780±183.1	1556±102.3	1736±125.4	1756±122.9
UC2	444±127.1	1812±156.7	1580±110.4	1764±160.5	1780±137.6
UC3	404±78.8	1744±116.5	1512±101.2	1784±128.2	1808±123.4
NC1	420±100.2	1760±161.1	1520±126.5	1720±148.5	1772±125.1
NC2	472±88	1828±147.3	1600±161.1	1788±160.1	1740±148.8
NC3	456±115	1844±125.7	1572±129.3	1788±165.5	1772±146.1
c-fos 免疫阳性神经元密度 Densities of c-fos immunoreactive neurons (cells/mm^2)					
KC1	148±75.5*	940±136.3*	820±112*	1176±163.5*	1184±160.2*
KC2	132±88.5*	960±129.3*	820±80.5*	1244±125.7*	1212±99.9*
KC3	132±88.5*	892±117.8*	836±76.5*	1268±110*	1248±114.4*
UC1	312±129	1620±183.1	1396±102.3	1736±125.4	1676±122.9
UC2	404±127.1	1624±192.5	1420±110.3	1720±103.3	1708±129.3
UC3	364±78.8	1664±116.5	1392±101.2	1704±128.2	1768±123.4
NC1	380±100.2	1720±161.1	1360±126.5	1680±148.5	1732±125.1
NC2	448±104.6	1708±147.3	1440±186.7	1668±160.1	1660±148.8
NC3	416±115	1684±125.7	1412±129.3	1708±165.5	1692±146.1

*：个体神经元密度显著低于 UC1～3 及 NC1～3 个体（P<0.05）。

*: Individual's neuronal densities are significantly lower than UC1-3 and NC1-3 (P<0.05).

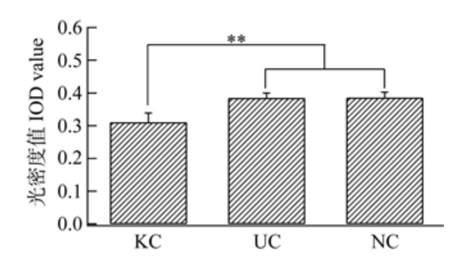


图 3 盐酸氯胺酮处理组（KC）、乌拉坦处理组（UC）和对照组猫（NC）初级视皮层 c-fos 免疫阳性神经元平均光密度（IOD）值

Figure 3 Average IOD (integrated optical density) value of c-fos immunoreactive neurons in the primary visual cortex of ketamine-treated (KC), urethane-treated (UC) and control cats (UC)

**: P<0.01

以上分析表明，盐酸氯胺酮急性麻醉对猫初级视皮层刺激依赖的c-fos蛋白表达有显著的抑制作用，而乌拉坦对初级视皮层c-fos表达的影响不显著。

3 讨 论

已有研究表明，刺激因素和药物诱导的中枢神经系统c-fos表达可显著被NMDA受体的拮抗剂阻断，提示c-fos的诱导可能经NMDA受体介导（Herrera & Robertson, 1990; Torres & Rivier, 1993）。氯胺酮是临床手术或动物实验中常用的麻醉诱导药物，有研究证实，它是NMDA受体的非竞争性拮抗剂（Jin et al, 2013），因此，有可能会抑制光刺激激发的视皮层兴奋性突触活动，从而抑制视皮层c-fos表达。本研究结果显示，盐酸氯胺酮急性麻醉处理组中视皮层各层的神经元密度与对照组无显著差异，而光刺激诱导的c-fos蛋白免疫阳性细胞密度显著低于对照组，且阳性细胞中c-fos免疫反应强度亦显著减弱，表明氯胺酮对视皮层神经元的诱发反应活动主要起抑制作用，这与其他研究者报

道的氯胺酮能抑制伤害性刺激诱发的脊髓*c-fos*基因的表达结果相一致（Huang & Simpson, 1999），且与氟烷、氧化二氮、异氟醚及异丙酚等其他麻醉剂的作用较相似（Hagihira et al, 1997; Jinks et al, 2002; Yan et al, 2002）。

乌拉坦为麻醉维持剂，因其对心血管和呼吸功能的影响很小（Hara & Harris, 2002），常用于大鼠、小鼠、家兔和猫等动物的神经生理学实验（Devonshire et al, 2010; Peng et al, 2011）。离体实验观察发现，乌拉坦能显著抑制海马和视皮层神经元对刺激的诱发反应和突触反应强度（Shirasaka & Wasterlain, 1995; Sceniak & Maciver, 2006），而在体实验显示，乌拉坦在正常麻醉剂量时对皮层神经元的诱发反应活动无显著影响或影响很小（ Peng et al, 2011; Sceniak & Maciver, 2006）。

本研究结果显示，正常麻醉剂量的乌拉坦组中刺激诱导的c-fos蛋白免疫阳性细胞密度和免疫反应强度与对照组相比均无显著差异，提示正常麻醉剂量的乌拉坦对视皮层神经元诱发反应活动的抑制作用微弱。该结果支持以前的在体实验研究，与离体实验观察存在差异，而这些差异是否与麻醉剂量有关，尚有待进一步研究。乌拉坦影响中枢神经元活动的作用位点和机制还不甚清楚，有学者认为它不影响兴奋性和抑制性突触传递，其抑制作用可能由通过改变细胞膜K^+通道的通透性得以实现（Sceniak & Maciver, 2006）。另有学者认为，乌拉坦可作用于兴奋性和抑制性递质受体通道（McCardle & Gartside, 2012），但在正常麻醉剂量时作用较弱，在高麻醉剂量时可对多种受体通道产生影响（Hara & Harris, 2002）。我们以前的电生理研究发现，高剂量（高于正常麻醉剂量150 mg）乌拉坦能抑制视皮层神经元对视觉刺激的诱发反应，但未显著改变神经元对光栅刺激方位和运动方向反应的选择性（Peng et al, 2011），而视皮层神经元对光栅或光条刺激方位及运动方向反应的选择性强弱主要取决于皮层内抑制性递质（特别是GABA）系统作用的强弱（Eysel et al, 1998; Leventhal et al, 2003），据此推测，乌拉坦在高剂量时对神经元活动的抑制作用可能不是通过GABA能抑制性递质系统介导，而可能与谷氨酸受体的抑制或K^+离子通道的激活有关（Daló & Hackman, 2013; Sceniak & Maciver, 2006）。乌拉坦作用机制与物种、脑区和麻醉剂量的关系有待进一步研究。

总之，本研究通过观察立早基因 c-fos 蛋白的表达评价了两种常用麻醉剂在正常麻醉剂量时对视皮层神经元刺激诱发反应的影响，发现盐酸氯胺酮能显著抑制视皮层神经元刺激诱导的 c-fos 蛋白表达，而乌拉坦对刺激诱导的 c-fos 蛋白表达无明显影响，表明氯胺酮对视皮层神经元的刺激诱发反应可能存在较强的抑制作用，而乌拉坦的抑制作用不显著。提示在视觉生理学实验中，乌拉坦相对于氯胺酮而言是比较适合的麻醉维持剂。本研究结果为进一步探讨氯胺酮和乌拉坦对视皮层神经元活动的影响途径和细胞分子机制提供线索。

参考文献：

Daló NL, Hackman JC. 2013. The anesthetic urethane blocks excitatory amino acid responses but not GABA responses in isolated frog spinal cords. *Journal of Anesthesia,* **27**(1): 98-103.

Devonshire IM, Grandy TH, Dommett EJ, Greenfield SA. 2010. Effects of urethane anaesthesia on sensory processing in the rat barrel cortex revealed by combined optical imaging and electrophysiology. *European Journal of Neuroscience,* **32**(5): 786-797.

Eysel UT, Shevelev IA, Lazareva NA, Sharaev GA. 1998. Orientation tuning and receptive field structure in cat striate neurons during local blockade of intracortical inhibition. *Neuroscience,* **84**(1): 25-36.

Filipkowski RK. 2000. Inducing gene expression in barrel cortex-focus on immediate early genes. *Acta Neurobiologiae Experimentalis,* **60**(3): 411-418.

Hagihira S, Taenaka N, Yoshiya I. 1997. Inhalation anesthetics suppress the expression of c-Fos protein evoked by noxious somatic stimulation in the deeper layer of the spinal cord in the rat. *Brain Research,* **751**(1): 124-130.

Hara K, Harris RA. 2002. The anesthetic mechanism of urethane: the effects on neurotransmitter-gated ion channels. *Anesthesia and Analgesia,* **94**(2): 313-318.

Herrera DG, Robertson HA. 1990. *N*-methyl-D-aspartate receptors mediate activation of the c-fos proto-oncogene in a model of brain injury. *Neuroscience,* **35**(2): 273-281.

Höffken O, Haussleiter IS, Westermann A, Lötsch J, Maier C, Tegenthoff M, Schwenkreis P. 2013. Influence of (S)-ketamine on human motor cortex excitability. *Experimental Brain Research,* **225**(1): 47-53.

Howland RH. 2013. Ketamine for the treatment of depression. *Journal of Psychosocial Nursing and Mental Health Services,* **51**(1): 11-14.

Huang W, Simpson RK Jr. 1999. Ketamine suppresses c-fos expression in dorsal horn neurons after acute constrictive sciatic nerve injury in the rat. *Neuroscience Letters,* **269**(3): 165-168.

Jin JH, Gong KR, Zou XJ, Wang RR, Lin Q, Chen J. 2013. The blockade of

NMDA receptor ion channels by ketamine is enhanced in developing rat cortical neurons. *Neuroscience Letters*, **539**: 11-15.

Jinks SL, Antognini JF, Martin JT, Jung SW, Carstens E, Atherley R. 2002. Isoflurane, but not halothane, depresses c-fos expression in rat spinal cord at concentrations that suppress reflex movement after supramaximal noxious stimulation. *Anesthesia and Analgesia,* **95**(6): 1622-1628.

Kochs E, Bischoff P. 1994. Ketamine and evoked potentials. *Anaesthesist*, **43**(Suppl 2): S8-S14.

Leventhal AG, Wang YC, Pu ML, Zhou YF, Ma YY. 2003. GABA and its agonists improved visual cortical function in senescent monkeys. *Science,* **300**(5620): 812-815.

Marchant EG, Morin LP. 2001. Light augments FOS protein induction in brain of short-term enucleated hamsters. *Brain Research,* **902**(1): 51-65.

McCardle CE, Gartside SE. 2012. Effects of general anaesthetics on 5-HT neuronal activity in the dorsal raphe nucleus. *Neuropharmacology,* **62**(4): 1787-1796.

Nakadate K, Imamura K, Watanabe Y. 2012. Effects of monocular deprivation on the spatial pattern of visually induced expression of c-Fos protein. *Neuroscience,* 202: 17-28.

Patel IM, Chapin JK. 1990. Ketamine effects on somatosensory cortical single neurons and on behavior in rats. *Anesthesia and Analgesia,* **70**(6): 635-644.

Peng QS, Zhou J, Shi XM, Hua GP, Hua TM. 2011. Effects of urethane on the response properties of visual cortical neurons in young adult and old cats. *Zoological Research,* **32**(3): 337-342.(in Chinese)

Poveda A, Kretz R. 2009. c-Fos expression in the visual system of the tree shrew (*Tupaia belangeri*). *Journal of Chemical Neuroanatomy,* **37**(4): 214-228.

Sceniak MP, Maciver MB. 2006. Cellular actions of urethane on rat visual cortical neurons *in vitro*. *Journal of Neurophysiology,* **95**(6): 3865-3874.

Shirasaka Y, Wasterlain CG. 1995. The effect of urethane anesthesia on evoked potentials in dentate gyrus. *European Journal of Pharmacology,* **282**(1-3): 11-17.

Torres G, Rivier C. 1993. Cocaine-induced expression of striatal c-fos in the rat is inhibited by NMDA receptor antagonists. *Brain Research Bulletin,* **30**(1-2): 173-176.

Van der Gucht E, Clerens S, Jacobs S, Arckens L. 2005. Light-induced Fos expression in phosphate-activated glutaminase-and neurofilament protein-immunoreactive neurons in cat primary visual cortex. *Brain Research*, **1035**(1): 60-66.

Xu LX, Zhang H, Zhang HK, Li J, Zhang GL. 2000. Effects of enflurane and isoflurane on spontaneous neural discharge of the supraoptic nucleus neurons of rat hypothalamic slices. *The Journal of Clinical Anesthesiology,* **16**(6): 299-301. [徐礼鲜, 张惠, 张洪凯, 李军, 张国良. 2000. 安氟醚和异氟醚对大鼠脑薄片视上核神经元自发电活动的影响. 临床麻醉学杂志, **16**(6): 299-301.]

Xu LX, Ma JH, Zhang H. 2001. Effects of enfluane and isoflurane on the spontaneous neural discharge of central amygdaloid nucleus in rats. *Chinese Journal of Anesthesiology,* **21**(11): 676-678. [徐礼鲜, 马加海, 张惠. 2001. 安氟醚和异氟醚对大鼠中央杏仁核神经元自发放电活动的影响. 中华麻醉学杂志, **21**(11): 676-678.]

Yan M, Zhang LC, Dai TJ, Zheng YM, Duan SM. 2002. Propofol depresses c -fos expression of NOS neurons in the spinal cord of rats with inflammatory pain. *Acta Physiologica Sinica,* **54**(1): 60-64.(in Chinese)

动 物 学 研 究 2013，Dec. 34(6): 589−595 CN 53-1040/Q ISSN 0254-5853
Zoological Research DOI:10.11813/j.issn.0254-5853.2013.6.0589

激活大鼠前额叶下边缘区 $GABA_A$ 受体对被动回避记忆巩固的影响

王晓琴[1,2]，李仙丽[2,3]，王功伍[2,*]

1. 云南师范大学 体育学院，云南 昆明 650500
2. 云南师范大学 生命科学学院行为与认知神经生物学实验室，云南 昆明 650500
3. 郑州中学，河南 郑州 450001

摘要：该研究采用一次性步入法测试大鼠被动回避行为，以局部 EEG 功率变化作为蝇蕈醇失活前额叶下边缘区的效果指标，观察训练期和 24 h 后重测试时大鼠进入暗箱的潜伏期，旨在探讨激活前额叶下边缘区 $GABA_A$ 受体，可逆性失活该区神经元对大鼠被动回避记忆巩固过程的影响。结果发现，蝇蕈醇可显著降低大鼠前额叶下边缘区 EEG 总功率，但其被动回避作业重测试潜伏期与对照组无明显差异；即大鼠前额叶下边缘区 $GABA_A$ 受体被激活，导致该区神经兴奋性可逆性降低，但不影响被动回避记忆的巩固过程。

关键词：前额叶下边缘区；$GABA_A$ 受体；被动回避记忆巩固；EEG 功率；Sprague-Dawley 大鼠；蝇蕈醇
中图分类号：Q189；Q427 **文献标志码**：A **文章编号**：0254-5853-(2013)06-0589-07

Effect of prefrontal infralimbic cortex $GABA_A$ receptor agitating on passive avoidance memory consolidation of rats

Xiao-Qin WANG[1,2], Xian-Li LI[2,3], Gong-Wu WANG[2,*]

1. *School of Physical Education*, *Yunnan Normal University*, *Kunming* 650500, *China*
2. *Laboratory of Behavioural and Cognitive Neurobiology*, *School of Life Sciences*, *Yunnan Normal University*, *Kunming* 650500, *China*
3. *Zhengzhou Middle School*, *Zhengzhou* 450001, *China*

Abstract: In this study, one-trial step-through task was applied to reveal the effect of prefrontal infralimbic cortex $GABA_A$ receptor agitating on passive avoidance memory consolidation in rats. Immediately after training (with shock), $GABA_A$ receptor agonist, muscimol (0.5 μg/0.25 μL) or saline (0.25 μL) was infused into the test animal's infralimbic cortex, then, the latencies of rats stepping through the dark room were recorded. Meanwhile, local EEG power was adopted as index of the inactivation effect of muscimol. The step-through latencies of muscimol group were comparable（P>0.05）with saline group, but their local EEG power had decreased significantly (P<0.05). These results suggest that the inactivation of infralimbic cortex would not demolish the passive avoidance memory consolidation of rats.

Keywords: Prefrontal infralimbic cortex; $GABA_A$ receptor; Passive avoidance memory consolidation; EEG power; Sprague-Dawley rat; Muscimol

记忆巩固的系统水平理论（system-level memory consolidation theory）指出，陈述性记忆（declarative memory）信息经海马（hippocampus）等编码后，在相关新皮质形成长时记忆，即记忆巩固（Dudai，2012；Squire et al，2004）。作为新皮质，前额叶（prefrontal cortex，PFC）尤其是腹内侧前额叶（ventromedial PFC，vmPFC）在记忆巩固中非常重要（Bontempi et al，1999；Frankland &

收稿日期：2013-05-02；接受日期：2013-07-15
基金项目：国家自然科学基金（31060142）；教育部“春晖计划”合作科研项目（Z2011126）；云南省应用基础研究计划（2011FZ084）；云南省高校民族体质健康与高原训练生物适应重点实验室项目
*通信作者（Corresponding author），E-mail：waov@tom.com
第一作者简介：王晓琴，硕士，讲师，主要从事运动生理和神经生物学研究

Bontempi，2005；Nieuwenhuis & Takashima，2011），参与恐惧消退记忆的巩固和提取（Burgos-Robles et al，2007；Laurent & Westbrook，2009；LaLumiere et al，2010；Milad & Quirk，2002；Quirk et al，2000 ），主要包括前边缘皮质（prelimbic cortex，PLC）和下边缘皮质（infralimbic cortex，ILC）。虽然 PLC 和 ILC 在解剖位置上相邻，但其在记忆中的作用并不完全一致（Jinks & Mcgregor，1997；Laurent & Westbrook，2009；Marquis et al，2007；Sierra-Mercado et al，2011）。Nieuwenhuis & Takashima（2011）根据人类和大鼠 vmPFC 在记忆过程中的活动表现，推测两者具有功能相似性，而人类 vmPFC 在情感相关精神疾病（如虚谈症）的发生中具有重要作用，因此，研究大鼠 ILC 的记忆功能，有助于了解此类精神疾病的发病机理。

Jinks & Mcgregor（1997）发现训练前永久损毁大鼠 ILC 会导致严重的被动回避记忆障碍，而损毁 PLC 则无明显影响。在训练前可逆失活 PLC 可致工作记忆障碍，但对被动回避学习无明显损伤效应（Wang & Cai，2006，2008）。Laurent & Westbrook（2009）比较了分别失活 PLC 和 ILC 对恐惧消退记忆的影响，发现 PLC 主要参与恐惧反应的表达，而 ILC 在消退记忆的巩固和提取中更为关键。Zhang et al（2011）发现，小鼠接受被动回避训练后 90 min 时，包括 ILC 在内的多个脑区的即刻早基因（如 *c-fos* 和 *Arc* 基因）表达（蛋白合成）显著增加，而若在训练后立即向 vmPFC（PLC 以及 ILC 的小部分区域）注射蛋白合成抑制剂则可导致被动回避记忆巩固过程受损，说明被动回避记忆的巩固过程依赖 vmPFC 的蛋白合成。

以上研究均提示 ILC 在被动回避记忆巩固中具有重要作用。但 Jinks & Mcgregor（1997）使用的电损毁方法，不能排除过路纤维受损效应，亦不能说明 ILC 在不同记忆阶段中的作用。而 Zhang et al（2011）则由于注射位点不专一，不能说明 PLC 和 ILC 在记忆巩固中作用的异同。鉴于前额叶区域存在丰富的 $GABA_A$ 受体，激活该受体会使 Cl^- 通道开放，神经元兴奋性降低而致局部脑区功能暂时失活（Dunn et al，1996）。为明确 ILC 中 $GABA_A$ 受体在被动回避记忆巩固中的作用，本研究选用 $GABA_A$ 受体激动剂蝇蕈醇（muscimol）可逆失活 ILC 区域神经元，并以局部 EEG 功率谱变化作为神经活动抑制指标，探讨 ILC 区神经元兴奋性降低对被动回避记忆巩固过程的影响。

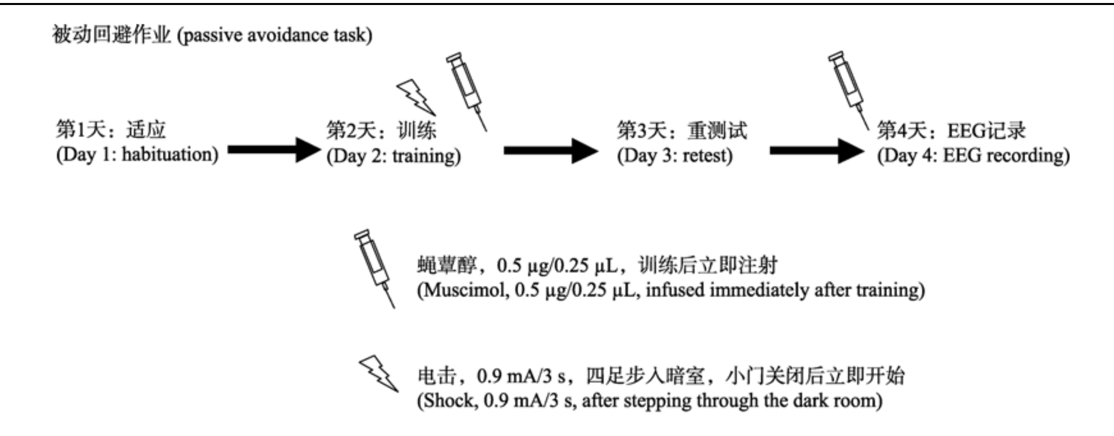
1 材料与方法

1.1 实验动物

实验用 20 只成年雄性 Sprague-Dawley 大鼠（*Rattus norregicus*），购自成都达硕生物科技有限公司（许可证编号：SCXK（川）2008–0024），购入时为 8 周龄，体重 180~220 g)，分组饲养于聚丙烯鼠笼，自由饮水和取食。手术前，所有动物在实验室适应至少一周，实验者每天抚摸、抓握数次，使其适应实验过程。房间内保持自然光周期变化（12L:12D），并监控温度（22 ± 1）℃和湿度（45%~55%，相对湿度）。所有行为测试均在每天的下午同一时间（13:30—15:30）进行。所有实验过程均遵照《云南省实验动物管理条例》及美国国立健康研究院《*Guidelines for Use and Care of Laboratory Animals*》进行。实验动物分成生理盐水（saline）组（*n*=10）和蝇蕈醇（muscimol）组（*n*=10），用被动回避作业进行测试。实验流程如图 1 所示，为防止对被动回避作业造成干扰，EEG 记录在被动回避作业重测试结束后进行。

1.2 引导管埋置

硫酸阿托品（上海禾丰制药有限公司，批号：100804）（0.2 mg/kg，i.p.）预处理 20 min 后，使用戊巴比妥钠（4%，Merck Drugs & Biotechnology，德国，批号：1063180500）（50 mg/kg，i.p.）深度麻醉动物，随后，将动物固定于立体定位仪（68404 型，深圳市瑞沃德生命科技有限公司深圳瑞沃德公司）。盐酸普鲁卡因（重庆莱美药业股份有限公司，批号：090530）局部麻醉后，切开头皮，在预定位置钻孔（直径 1 mm），将不锈钢引导管（外径 0.48 mm；62003 型，深圳市瑞沃德生命科技有限公司）插入预定深度，并用不锈钢螺丝和牙科水泥固定，引导管内置不锈钢内芯，内芯较引导管深入 0.5 mm，至目标脑区所在位置。根据大鼠脑立体定位图谱（Paxinos & Watson，2007），以前囟（bregma）为原点，确定 ILC 的立体定位坐标（AP：+3.0 mm；ML：±0.7 mm；DV：−5.0 mm。手术完毕后，在刀口处涂以莫匹罗星软膏（中美天津史克制药有限公司，批号：12040269）和云南白药（云南白药集团股份有限公司，批号：20081010）止血、止痛并预防感染，手术当天及以后连续 4 d 每天注射青霉素钠（$8×10^4$ U，i.m.，哈药集团制药总厂，批号：



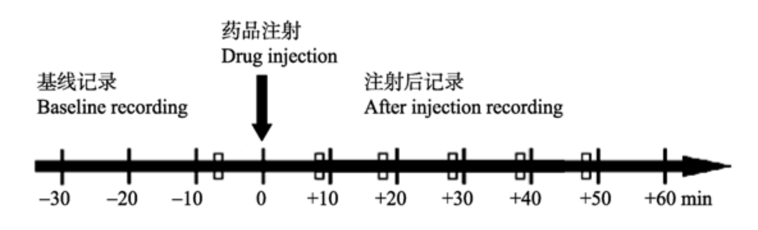


图 1　被动回作业行为测试和 EEG 记录流程图

Figure 1　Flow diagrams of the passive avoidance task and EEG recording

EEG 记录时间轴线上的小矩形代表在此段采集的用于 EEG 功率谱分析的 EEG 片段（2 min）。

The small rectangles on the EEG recording timeline indicate the 2 min segments used in EEG power analysis.

A120805610）以预防感染。动物在手术后单笼饲养，至少恢复一周。

1.3　被动回避作业

训练采用经典的一次性步入法，使用 GEMINI 两用回避系统（San Diego Instruments，美国）。测试箱由明室和暗室组成，两室中间有自动升降门供动物通行，两室底部的平行铜棒间隔 2 cm，与内置电刺激器相连。训练过程持续 3 d，第 1 天为适应期（habituation），将动物放入明室，小门保持打开状态，熟悉实验装置 5 min。第 2 天为训练期（training phase），同一时间，打开小门，将动物背向小门放入明室，记录动物从开始到进入暗室的时间（潜伏期），待动物四肢全部踏入暗室后，小门立即关闭，并给予电击（0.9 mA，3 s），电击结束 5 s 后将动物取出，立即注射药物（蝇蕈醇溶液或生理盐水），注射完毕放回笼中。24 h 后进行重测试（retest phase），操作与训练期相同，但不给予电击（图 1），同样记录动物步入暗室的潜伏期，若动物在 300 s 内未进入暗室，则将其潜伏期记作 300 s 并取出，该指标反映动物对 24 h 前在暗室遭电击事件信息的记忆保持情况。

1.4　脑内注射

实际注射前，采用模拟注射的方式让动物适应整个过程，并于被动回避训练期电击结束后立即进行注射。将引导管内芯取出，插入不锈钢注射导管（直径 0.3 mm），且深入程度与引导管内芯相同。通过微量泵（MD-1001，Bioanalytical System，美国）推动 5 μL 微量进样器以 0.125 μL/min 的速率注射 0.25 μL 生理盐水或蝇蕈醇溶液（0.5 μg/0.25 μL，Sigma Chemical Co., Ltd.，美国，批号：674K4052）2 min。注射完毕后，注射导管原位停留 1 min 后取出，放回内芯，旋上导管帽后将动物放回笼中。

1.5　局部 EEG 记录和 EEG 功率谱分析

行为任务结束后第 2 天，注射蝇蕈醇并记录 EEG。记录时将引导管内芯取出，插入不锈钢记录电极（尖端裸露 0.3 mm，直径 0.15 mm），深入程度与引导管内芯相同。记录基线 30 min 后，取出电极插入注射导管，注射蝇蕈醇（0.5 μg/0.25 μL）或生理盐水（0.25 μL），注射完毕后立即将记录电极插回引导管，记录 EEG 信号 50～60 min（图 1）。EEG 信号由生理信号采集系统（RM6240B，成都仪器厂）采集，采样频率为 1 000 Hz，时间常数为 0.2 s。EEG 记录期间，动物自由活动，但需注意防止动物出现较大的运动或进入睡眠状态。脑电图记录分为注射前（基线）和注射后两部分，注射前

选取 2 min 的基线段，注射后共选取 6 个 2 min（128 s）的 EEG 片段，间隔时间为 10 min（图 1）。原始数据经数字滤波和 200 Hz 重采样后进行快速傅立叶变换，将其由 EEG 曲线转变为 EEG 功率谱，计算包含 δ（0.98~3.91Hz）、θ（4.10~8.01Hz）、α（8.21~11.91Hz）、β_1（12.11~ 19.92Hz）、β_2（20.12~30.08Hz）等常见 EEG 频段在内的 0.98~30.08 Hz 频段的对数线性功率（Wang & Cai，2006）。基线功率视为 100%，计算注射后各时间段总功率占基线总功率的百分率，作为该时间段的相对功率。注射后的功率与自身基线纵向比较时采用对数线性功率，药物注射后同时间段的功率与生理盐水组横向比较时采用相对功率。EEG 功率谱详细计算方法参照 Wang & Cai（2006）。

1.6 注射部位组织学检查

行为测试和 EEG 记录完成后，将动物用超量戊巴比妥钠麻醉，将不锈钢电极经引导管插入脑内，通以正向 6 V 直流电 10 s。随后经升主动脉灌流生理盐水及 4%甲醛生理盐水溶液（含 1%亚铁氰化钾）固定，用普鲁士蓝法标记注射位点。取脑，并置于 4 %甲醛生理盐水溶液固定一周，用振动切片机（DQP-1，成都仪器厂）作连续冠状切片（50 µm），每 5 张切片取一张在解剖镜下观察标记的蓝斑区域，其中心区即注射导管尖端和记录电极位置。

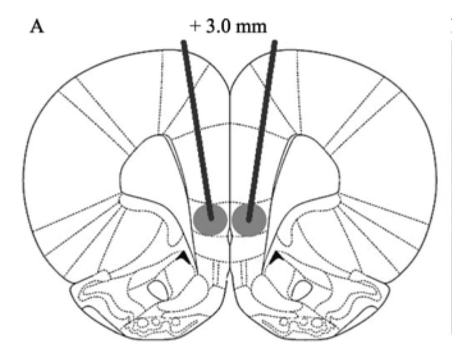
1.7 数据统计

本研究采用独立样本 *t*-检验比较生理盐水组与蝇蕈醇组动物在被动回避反应作业的潜伏期数据（组间比较），采用配对样本 *t*-检验比较每组动物训练期和保持期潜伏期数据（组内比较），采用双因素和单因素重复测量的方差分析比较 EEG 功率谱数据，所有数据均表示为 mean±*SE*，$P<0.05$ 为统计显著性差异。

2 结 果

2.1 注射导管位置的组织学检查

组织学检查表明，7 只生理盐水组动物及 8 只蝇蕈醇组动物导管准确位于预期脑区（图 2），其余动物数据未用于统计分析。



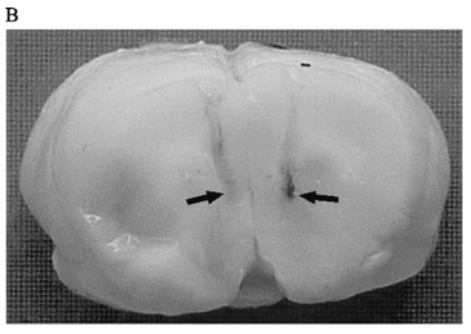


图 2 注射导管尖端位置（冠状切面观）

Figure 2 Positions of the cannula tip in brain (coronal view)

A：注射导管在大鼠脑下边缘区的位置示意图（引自 Paxino & Watson，2007，略作修改）；B：注射导管在大鼠脑中的实际位置；数字为该冠状切片与前囟的距离（mm）；箭头：注射导管尖端所在位置。

A; Draft of the positions of cannula tip in the infralimbic area of rat brain (derived from Paxino & Watson，2007 with modification); B: Actual position of cannula tip in a rat brain; Number indicates the distance of this coronal slice from bregma (mm), Arrows indicate the positions of cannula tip.

2.2 蝇蕈醇使 ILC 局部 EEG 总功率显著降低

单因素重复测量方差分析表明，在 ILC 内注射生理盐水后，其局部 EEG 功率随时间变化无显著改变 [$F_{(1,6)}$=2.129，P=0.195]，而注射蝇蕈醇后则表现时间依赖性显著降低 [$F_{(1,7)}$=20.010，P=0.003]，相对基线和盐水组，注射后 10 min，EEG 功率明显降低，注射后 50 min 降低~20 %。双因素重复测量方差分析表明，存在显著的时间/处理交互效应 [$F_{(1,13)}$= 7.954，P=0.014]（图 3，图 4）。由图 4 可见，下降明显的成分主要分布于低频频段（$\delta+\theta$，0.98~8.01 Hz）和 β 频段（12.11~30.08 Hz），α 频段功率改变较小。

2.3 蝇蕈醇导致的 ILC 区神经元兴奋性降低对大鼠被动回避记忆巩固无显著影响

训练期，生理盐水组动物进入暗室的潜伏期平均值为 15.17 s，蝇蕈醇组为 7.74 s，说明两组动物均能在被放入明室后迅速进入暗室。生理盐水组和蝇蕈醇组的潜伏期无显著差异 [独立样本 *t*-检验：$t_{(13)}$=1.664，P=0.1200]，说明两组动物的避暗行为无显著差异，均具有正常的趋暗习性和正常的视觉、运动功能。重测试期，生理盐水组进入暗室的

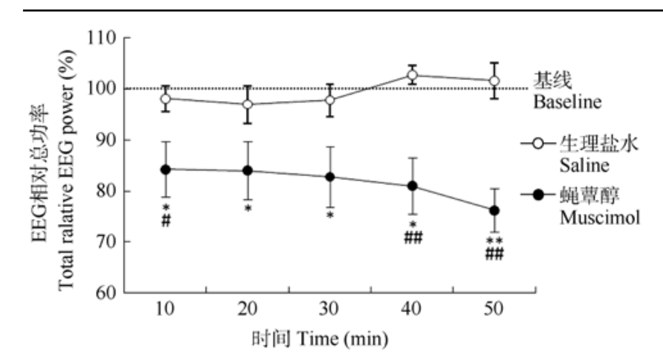


图 3　大鼠前额叶下边缘皮质注射蝇蕈醇后不同时段的局部 EEG（0.98~30.08 Hz）总功率变化

Figure 3　Local EEG spectral profiles (0.98~30.08 Hz) of rat prefrontal infralimbic cortex before and after muscimol infusion

*：P<0.05，**：P<0.01（配对样本 t-检验，与基线相比）；#：P<0.05，##：P<0.01（独立样本 t-检验，与生理盐水组相比）。
*: P<0.05; **: P<0.01 (paired samples t-test，compared with baseline); #: P<0.05, ##: P<0.01 (unpaired samples t-test，compared with saline group).

潜伏期平均值为 163.2 s，蝇蕈醇组为 123.9 s，两组间无显著性差异 [独立样本 t-检验：$t_{(13)}$=0.5801，P=0.5718]。两组动物各自训练期和重测试期数据相比较均存在显著性差异 [配对样本 t-检验，生理盐水组：$t_{(6)}$=2.968，P=0.0250；蝇蕈醇组：$t_{(7)}$=2.523，P=0.0397]，说明两组动物均可建立正常的被动回避记忆（图 5）。

3　讨　论

蝇蕈醇通过激动 $GABA_A$ 受体，使 Cl^- 通道开放，导致注射区域神经元超极化，兴奋性降低（Saari et al，2011）。EEG 总功率是检查大脑兴奋性的一个定量指标（Ludvig et al，2012；Wang & Cai，2006）。在本研究中，注射蝇蕈醇后，ILC 局部 EEG 总功率降低，注射后 50 min，总功率下降~20%，表明注射脑区的神经元兴奋性受到了抑制。蝇蕈醇仅能够暂时抑制注射脑区功能，24 h 后该抑制功能即可被代谢清除，从而恢复该脑区的功能（Arikan et al，2002）。本研究在训练后立即给药，训练结束 24 h 后重测试，此时神经元的兴奋性已经完全恢复，对重测试时的记忆提取过程没有影响。被动回避作业反映动物形成的由足底电击引起的厌恶或恐惧情绪与电击情境相联合的长时记忆（McGaugh，2004），包含获得、巩固和提取 3 个阶段。本研究在训练后立即给药，观察药物对记忆巩固阶段的影响，结果发现，试验组与对照组的重测试潜伏期均显著高于训练期，而两组相比无显著性差异，即蝇蕈醇激活 $GABA_A$ 受体，抑制 ILC 兴奋性，但不影响被动回避记忆巩固。

Wang & Cai（2006，2008）报道，在训练前 30 min 将蝇蕈醇（0.5 μg/ 0.25 μL）注射至 PLC

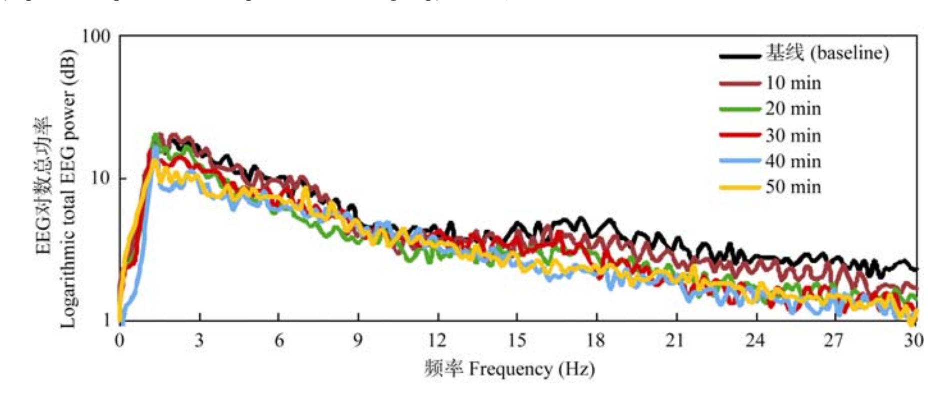


图 4　大鼠前额叶下边缘皮质注射蝇蕈醇后不同时间段的局部 EEG 功率谱曲线

Figure 4　EEG spectral profiles of rat prefrontal infralimbic cortex before and after muscimol infusion

每段曲线为 2 min 的 EEG 对数功率谱的平均值。
Each profile is the mean of a 2 min period EEG power.

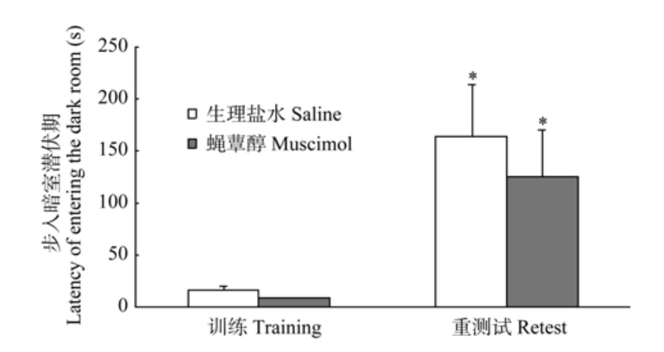


图 5　前额叶下边缘皮质训练后失活对大鼠被动回避作业一次性步入潜伏期的影响

Figure 5　Effect of prefrontal infralimbic cortex after training inactivation on one-trial step-through latency in passive avoidance task rats

*：P<0.05（配对样本 t-检验，与训练期相比）。
*: P<0.05 (paired samples t-test，compared with training phase).

或者腹侧海马可使局部 EEG 总功率下降，且下降程度与本研究相似（~20%），且可导致 T-迷宫空间工作记忆、Morris 水迷宫空间参考记忆和步入式被动回避记忆的损伤，说明本研究采用的蝇蕈醇注射剂量可以激活足够的 $GABA_A$ 受体，抑制注射脑区神经元兴奋性。工作记忆是短暂（持续数秒~数十秒）保持信息并将其用于指导思维或行为的记忆，并与神经元和神经回路的功能状态有关(Floresco et al，1997；Wang & Cai，2006，2010）。而参考记忆和被动回避记忆属长时记忆范畴，其记忆信息的获得和提取同样与神经元及其回路的功能状态有关（Bontempi et al，1999；Wang & Cai，2008）。训练前给药主要干扰记忆获得和巩固，因此，在训练前注射蝇蕈醇（0.5 μg/ 0.25 μL）至 PLC，可损伤工作记忆和长时记忆形成过程（Floresco et al，1997；Wang & Cai，2006，2008）。Jinks & McGregor（1997）在训练前永久损毁大鼠 ILC，Zhang et al（2011）在小鼠被动回避训练后，向包括 PLC 和 ILC 在内的 mPFC 中注射蛋白合成抑制剂后，动物的被动回避记忆巩固明显受损，表明 ILC 区与被动回避记忆巩固有关。本研究在训练后以蝇蕈醇降低大鼠 ILC 区兴奋性，但其被动回避记忆巩固未受影响。记忆巩固需要基因表达、新蛋白的合成和突触形态结构的改变（Sutton & Schuman，2006）。可能在训练期，即记忆获得阶段，相关神经元就已经启动了巩固相关基因表达和新蛋白质合成等过程（Zhang et al，2011），而在训练后的记忆巩固阶段抑制神经元兴奋性就不能阻止蛋白质的合成了。因此，在本研究中，$GABA_A$ 受体激动剂虽能降低神经元兴奋性，但不影响已经启动的蛋白合成过程，故大鼠的被动回避记忆巩固过程未受影响。

综上所述，本研究结果表明，相对于 PLC，ILC 是一个独立的 vmPFC 亚区，激活其 $GABA_A$ 受体，抑制神经元活动，可降低局部 EEG 总功率，且不损伤大鼠被动回避记忆巩固过程，但其具体的机制有待进一步探讨。

致谢：云南师范大学生命科学科学学院 2006 级本科生张怡斐同学和李淑芳同学曾参与部分动物手术辅助和行为数据收集、整理工作，中国科学院昆明动物研究所脑与行为实验室蔡景霞研究员提供了部分实验条件，在此表示特别感谢。

参考文献：

Arikan R, Blake NM, Erinjeri JP, Woolsey TA, Giraud L, Highstein SM. 2002. A method to measure the effective spread of focally injected muscimol into the central nervous system with electrophysiology and light microscopy. *Journal of Neuroscience Methods,* **118**(1):51-57.

Bontempi B, Laurent-Demir C, Destrade C, Jaffard R. 1999. Time-dependent reorganization of brain circuitry underlying long-term memory storage. *Nature,* **400**(6745):671-675.

Burgos-Robles A, Vidal-Gonzalez I, Santini E, Quirk GJ. 2007. Consolidation of fear extinction requires NMDA receptor-dependent bursting in the ventromedial prefrontal cortex. *Neuron,* **53**(6):871-880.

Dudai Y. 2012. The restless engram：consolidations never end. *Annual Review of Neuroscience,* **35**(1):227-247.

Dunn E, Fritschy JM, Carter DB, Merchant KM. 1996. Differential distribution of gamma-aminobutyric acid A receptor subunit(α_1, α_2, α_3, α_5 and β_{2+3}) immunoreactivity in the medial prefrontal cortex of the rat. *Neuroscience Letters,* **210**(3):213-217.

Floresco SB, Seamans JK, Phillips AG. 1997. Selective roles for hippocampal, prefrontal cortical, and ventral striatal circuits in radial-arm maze tasks with or without a delay. *Journal of Neuroscience,* **17**(5):1880-1890.

Frankland PW, Bontempi B. 2005. The organization of recent and remote memories. *Nature Reviews Neuroscience,* **6**(2):119-130.

Jinks AL, McGregor IS. 1997. Modulation of anxiety-related behaviours following lesions of the prelimbic or infralimbic cortex in the rat. *Brain Research,* **772**(1-2):181-190.

LaLumiere RT, Niehoff KE, Kalivas PW. 2010. The infralimbic cortex regulates the consolidation of extinction after cocaine self-administration. *Learning and Memory,* **17**(4):168-175.

Laurent V, Westbrook RF. 2009. Inactivation of the infralimbic but not the prelimbic cortex impairs consolidation and retrieval of fear extinction. *Learning and Memory,* **16**(9):520-529.

Ludvig N, Tang HM, Baptiste SL, Medveczky G, Vaynberg JK, Vazquez-DeRose J, Stefanov DG, Devinsky O, French JA, Carlson C, Kuzniecky RI. 2012. Long-term behavioral, electrophysiological, and neurochemical monitoring of the safety of an experimental antiepileptic implant, the muscimol-delivering Subdural Pharmacotherapy Device in monkeys. *Journal of Neurosurgery,* **117**(1):162-175.

Marquis JP, Killcross S, Haddon JE. 2007. Inactivation of the prelimbic, but not infralimbic, prefrontal cortex impairs the contextual control of response conflict in rats. *European Journal of Neuroscience,* **25**(2):559-566.

McGaugh JL. 2004. The amygdala modulates the consolidation of memories of emotionally arousing experiences. *Annual Review of Neuroscience,* **27**(1):1-28.

Milad MR, Quirk GJ. 2002. Neurons in medial prefrontal cortex signal

memory for fear extinction. *Nature,* **420**(6911):70-74.

Nieuwenhuis IL, Takashima A. 2011. The role of the ventromedial prefrontal cortex in memory consolidation. *Behavioural Brain Research,* **218**(2):325-334.

Paxinos G, Watson C. 2007. The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates. (6th ed). Sydney：Academic Press.

Quirk GJ, Russo GK, Barron JL, Lebron K. 2000. The role of ventromedial prefrontal cortex in the recovery of extinguished fear. *The Journal of Neuroscience,* **20**(16):6225-6231.

Saari TI, Uusi-Oukari M, Ahonen J, Olkkola KT. 2011. Enhancement of GABAergic activity：neuropharmacological effects of benzodiazepines and therapeutic use in anesthesiology. *Pharmacological Reviews,* **63**(1):243-267.

Sierra-Mercado D, Padilla-Coreano N, Quirk GJ. 2011. Dissociable roles of prelimbic and infralimbic cortices, ventral hippocampus, and basolateral amygdala in the expression and extinction of conditioned fear. *Neuropsychopharmacology,* **36**(2):529-538.

Squire LR, Stark CE, Clark RE. 2004. The medial temporal lobe. *Annual Review of Neuroscience,* **27**：279-306.

Sutton MA, Schuman EM., 2006. Dendritic protein synthesis, synaptic plasticity, and memory. *Cell,* **127**(1):49-58.

Wang GW, Cai JX. 2006. Disconnection of the hippocampal-prefrontal cortical circuits impairs spatial working memory performance in rats. *Behavioural Brain Research,* **175**(2):329-336.

Wang GW, Cai JX. 2008. Reversible disconnection of the hippocampal-prelimbic cortical circuit impairs spatial learning but not passive avoidance learning in rats. *Neurobiology of Learning and Memory,* **90**(2):365-373.

Wang GW, Cai JX. 2010. Hippocampal-prefrontal cortical circuit and working memory. *Zoological Research,* **31**(1):50-56. [王功伍，蔡景霞. 2010. 海马-前额叶神经回路与工作记忆. 动物学研究, **31**(1):50-56.]

Zhang Y, Fukushima H, Kida S. 2011. Induction and requirement of gene expression in the anterior cingulate cortex and medial prefrontal cortex for the consolidation of inhibitory avoidance memory. *Molecular Brain,* **4**(1):4.

动 物 学 研 究 2013，Dec. 34(6): 596−600 CN 53-1040/Q ISSN 0254-5853
Zoological Research DOI:10.11813/j.issn.0254-5853.2013.6.0596

扁颅蝠（*Tylonycteris pachypus*）和褐扁颅蝠（*T. robustula*）理毛行为比较及其与体表寄生虫的关系

张礼标[1,*]，张光良[1,2]，唐占辉[2]，洪体玉[1]

1. 广东省昆虫研究所，广州 510260；
2. 东北师范大学 环境学院，吉林省动物资源保护与利用重点实验室，吉林 长春 130024

摘要：理毛行为是动物防御寄生虫感染有效的行为策略之一。通过室内行为观察，对扁颅蝠（*Tylonycteris pachypus*）和褐扁颅蝠（*T. robustula*）的理毛行为进行了研究，分析理毛行为的种间差异，以及体表寄生虫负荷量对理毛行为的影响。结果发现，扁颅蝠和褐扁颅蝠理毛行为主要可分为舔拭及抓挠，两种蝙蝠舔拭行为的频次和持续时长均大于抓挠行为。舔拭和抓挠行为的频次具有种间差异，扁颅蝠舔拭行为的频次高于褐扁颅蝠，但是其抓挠行为频次则低于后者；而舔拭行为和抓挠行为的持续时长无种间差异。两种蝙蝠体表寄生虫负荷量与理毛行为的总时长和总频次均无相关性。这些结果表明，扁颅蝠和褐扁颅蝠的理毛行为可能受到中枢神经调控及外部刺激的共同作用。

关键词：扁颅蝠；褐扁颅蝠；体表寄生虫；理毛行为

中图分类号：Q958.1；Q959.833 **文献标志码**：A **文章编号**：0254-5853-(2013)06-0596-05

Relationships between ectoparasites and grooming behavior of *Tylonycteris pachypus* and *T. robustula*

Li-Biao ZHANG[1,*], Guang-Liang ZHANG[1,2], Zhan-Hui TANG[2], Ti-Yu HONG[1]

1. *Guangdong Entomological Institute*, *Guangzhou*, 510260 *China*
2. *School of Environment*, *North East Normal University*, *Jilin Key Laboratory of Animal Resource Conservation and Utilization*, *Changchun*, 130024, *China*

Abstract: Grooming behavior is evolved in animals in response to the costs associated with ectoparasites. In this study, ecotparasite densities and grooming behavior—including licking and scratching—of wild-caught lesser bamboo bat (*Tylonycteris pachypus*) and greater bamboo bat (*T. robustula*) were analyzed. The results indicated that both the frequencies and durations of licking were higher than those of scratching in both bat species, though *T. pachypus* licked more but scratched less than *T. robustula*. There were no difference in the durations of licking and scratching between the two bat species, and the durations and frequencies of grooming behavior of the two bat species were irrelevant with ectoparasite densities. These findings suggest that the grooming behavior of *T. pachypus* and *T. robustula* might be modulated by both the central control (programmed grooming) model and the peripheral stimulation (stimulus driven) model.

Keywords: *Tylonycteris pachypus*; *Tylonycteris robustula*; Ectoparasite; Grooming behaviour

体表寄生虫通常降低宿主存活和生殖成功的适合度，这些适合度代价反过来促进了宿主对体表寄生虫的行为防御进化（Hart, 1992）。回避和清除是动物减少体表寄生虫的两种行为策略。宿主可以通过选择生活在不适合寄生虫生活的生境来回避寄生虫，许多研究都证明动物可以通过生境选择来防御寄生虫感染（Hart, 1992, 1997; Reckardt & Kerth, 2007）。特定生境对动物产生的生活利益和代价会影响其行为特征，许多研究结果表明，生活在寄生虫较少的生境中的动物用于理毛的时间相对较少（Mooring & Samuel, 1998; Mooring et al, 2000; ter Hofstede & Fenton, 2005）。理毛行为是另一个防

收稿日期：2013-04-15；接受日期：2013-08-20
基金项目：国家自然科学基金（30800102）；广州市珠江科技新星专项（2011J2200027）；广东省昆虫研究所优秀青年人才基金（GDEI-yxqn201101）
*通信作者（Corresponding author），E-mail: zhanglb@gdei.gd.cn
第一作者简介：张礼标（1976—），男，研究员，主要从事动物生态学研究

御体表寄生虫的行为策略，通过清除能有效地减少寄主的寄生虫负荷量。以往有研究表明，理毛行为的增加与体表寄生虫的增加步伐一致，即体表寄生虫增加伴随理毛行为的增加（Clayton et al, 1999; Eckstein & Hart, 2000）。虽然理毛行为能有效控制体表寄生虫负荷量，但也是一种高代价的行为：包括水分散失、降低警惕性、脱毛、能量消耗等（Giorgi et al, 2001; Mooring & Hart, 1995; Mooring & Samuel, 1999; Ritter & Epstein, 1974）。因此，理想的理毛水平（包括频率和时长）应该是理毛行为所获得的收益大于体表寄生虫的负面代价或至少二者达到一个平衡。

在蝙蝠理毛行为的研究中发现，理毛行为存在种间差异，推测是由于寄生虫负荷量不同引起的；但在种内理毛行为和寄生虫负荷数量的关系存在不同的结论，有学者认为高寄生虫负荷量增加理毛行为，寄生虫负荷量的增加显著影响宿主理毛行为的频次、持续时间及能量投入（Giorgi et al, 2001）；也有学者发现蝙蝠是否携带寄生虫对理毛行为的时长、频率没有影响（ter Hofstede & Fenton, 2005）。

扁颅蝠（*Tylonycteris pachypus*）和褐扁颅蝠（*T. robustula*）为同域分布的姊妹种，主要栖息在村庄周围竹林的竹筒内，雄性倾向于独居，而雌性喜群居且通常为一雄多雌；两种蝙蝠可以在不同的时间轮流使用相同的栖息竹筒（Zhang et al, 2004），但是其各自的体表寄生虫不同（Tian et al, 2009），寄生虫表现出对各自宿主的专一性（Zhang et al, 2010; Zhang et al, 2013）。扁颅蝠与褐扁颅蝠的体表寄生虫负荷量是否有差异，它们各自的理毛行为又是否不同，寄生虫负荷量与理毛行为之间是否有关系？本研究通过实时监控录像，观察分析两种扁颅蝠的理毛行为，进而分析理毛行为的种间差异，以及体表寄生虫负荷量对其理毛行为的影响，试图探讨这两种扁颅蝠理毛行为的调控机制。

1　研究地点与方法

实验于 2010 年 8 月—10 月进行，研究地点位于广西龙州县（区域自然地理概括见文献 Zhang et al, 2013），扁颅蝠和褐扁颅蝠均栖息于村庄周围竹林的竹筒内，白天捕捉蝙蝠后按栖息群分装于布袋内，带回临时实验室进行理毛行为观察。对捕捉到的蝙蝠记录物种和性别，选择雌性个体（扁颅蝠 21 只，褐扁颅蝠 15 只）进行实验，测量体重和前臂长，计数体表寄生虫数量（即为该个体的寄生虫负荷量）。扁颅蝠体表寄生虫为拟雷氏巨刺螨（*Macronyssus pararadovskyi*），褐扁颅蝠体表寄生虫为雷氏巨刺螨（*M. radovskyi*，Domrow, 1963）（Tian et al, 2009）。螨类主要寄生在蝙蝠的翼膜上，特别是腹部靠近体侧的位置，极少寄生在身体的毛发等其它部位；计数寄生虫时，对蝙蝠全身进行排查，统计所有的体表寄生虫。用体表寄生虫数量除以该蝙蝠体重做为该个体的单位体重寄生虫负荷量。

从野外采回两根分别栖宿过扁颅蝠和褐扁颅蝠的竹子，将小型红外视频监控摄像头放入竹筒底部，并调节好成像距离以保证观察时能清晰看到蝙蝠的行为。将进行实验观察的个体放入对应的竹筒（扁颅蝠放入栖息过扁颅蝠的竹筒，褐扁颅蝠放入栖息过褐扁颅蝠的竹筒），封上竹筒裂缝进出口防止蝙蝠逃出竹筒（预留一些缝隙保证空气流通）。红外视频监控摄像头连接到 Sony DV 机上记录蝙蝠的理毛行为。预实验时发现两种扁颅蝠只有在傍晚 18:00—19:00 时段理毛行为比较频繁，其它时间段相对比较安静。因此我们只观察记录实验个体在 18:00—19:00 时段的理毛行为。记录的理毛行为参数包括理毛方式和时长（一次理毛行为回合的持续时间）。将蝙蝠整个躯体分为左翼、右翼、尾膜、胸腹、后背、头部等 6 个部分；理毛方式分为舔拭（licking，即蝙蝠使用舌部、吻部对身体其他部位的舔拭行为）和抓挠（scratching，即蝙蝠使用拇指或者后足对身体其他部位的梳理行为）两种；一次理毛行为回合定义为采用一种理毛方式对同一个躯体部位连续理毛的过程，如果对同一部位的同种理毛方式间歇时间超过 3 sec 则记为另一次理毛行为（Mooring et al, 2006; ter Hofstede & Fenton, 2005）。扁颅蝠和褐扁颅蝠的舔拭行为主要是用舌头清理其自身体表，通常是翼膜、尾膜及后足，偶尔针对拇指区域；抓挠行为主要是用后足爪似梳子快速重复地清理皮毛区域。为尽量避免其它因素对理毛行为的影响，参与理毛行为观察的蝙蝠个体在体型数据测量及放入竹筒的过程中，实验操作人员戴一次性的塑料手套；且这些个体都在下午 17:00 以前放入竹筒，使其有一段适应时间；并于 18:00—19:00 进行理毛行为取样，每只个体的理毛行为取样时间为 1 h。

使用 SPSS 17.0 统计软件对数据进行分析，使用独立样本 t-test 分析两种蝙蝠单位体重寄生虫负荷量之间的差异显著性，以及种内两种理毛行为之间的

频次和时间的差异、种间理毛行为频次和时间的差异；使用 Pearson correlation 分析寄生虫负荷量与理毛行为频次、时间之间的相关性。数据以平均值±标准差（mean±*SD*）表示，显著性水平设为 α=0.05。

本研究遵循中华人民共和国国家科学技术委员会颁发的《实验动物管理条例》，所有蝙蝠在完成行为观察后在原捕捉地释放；整体实验方案获得广东省昆虫研究所动物伦理委员会的批准。

2 结 果

扁颅蝠和褐扁颅蝠的理毛行为均包括舔拭和抓挠行为。种内不同理毛行为对比发现，扁颅蝠和褐扁颅蝠舔拭行为的频次均比抓挠行为的要高（*Tp*: t=10.1, df=20, P<0.001; *Tr*: t=3.2, df=14, P<0.01, respectively)，每次舔拭行为的持续时间也均比抓挠行为的要长（*Tp*: t=11.0, df=20, P<0.001; *Tr*: t=11.7, df=14, P<0.001）（图 1）。

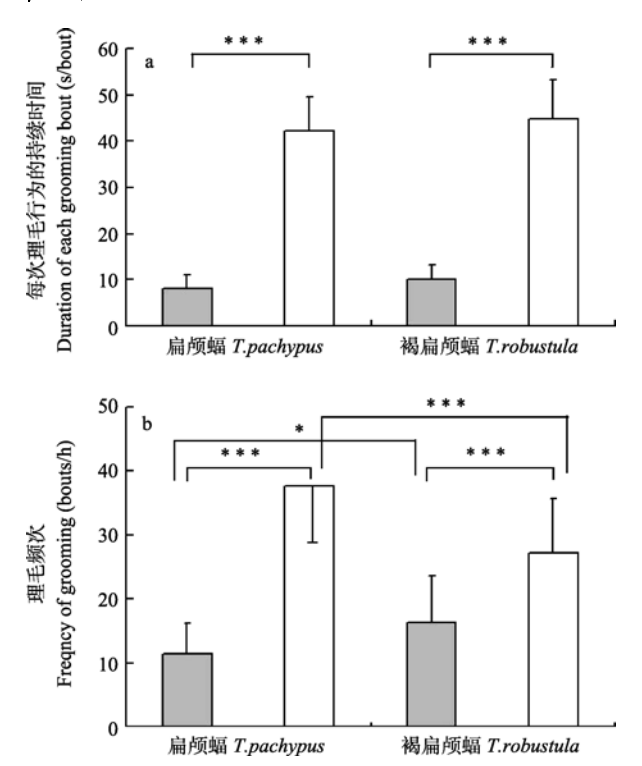


图 1 扁颅蝠与褐扁颅蝠两种理毛行为的平均时长（a）及其平均频次（b）

Figure 1 Durations (a) and frequencies (b) of licking (blank bars) and scratching (grey bars) of *Tylonycteris pachypus* and *T. robustula*

灰色柱形图为抓挠行为，空白柱形图为舔拭行为。

*: P<0.05; ***: P<0.001.

种间理毛行为对比发现，扁颅蝠舔拭行为的频次比褐扁颅蝠高（t=5.3, df=35, P<0.001），但抓挠行为的频次比后者低（t=3.8, df=35, P<0.05）；扁颅蝠与褐扁颅蝠的舔拭行为和抓挠行为的持续时间差异均不显著（t=0.7, df=35, P>0.05; t=1.3, df=35, P>0.05, respectively）（图 1）。

扁颅蝠单位体重体表寄生虫负荷量（1.2±0.7 只/g, n=21；范围 0～11 只）比褐扁颅蝠（0.5±0.3 只/g, n=15：范围 0～4 只）高，差异显著（t = 6.9, df=35, P<0.01）。两种蝙蝠体表寄生虫负荷量与理毛行为的总时长（Pearson correlation: *Tp*: r=0.23, P>0.05; *Tr*: r=0.18, P>0.05）和总频次（*Tp*: r=0.21, P>0.05; *Tr*: r=0.15, P>0.05）均没有相关性。

3 讨 论

包括翼手目在内的大多数哺乳动物都是许多体表寄生虫的天然宿主。体表寄生虫通常对宿主产生一定程度的影响，理毛行为是减少寄生虫感染较为有效的防御策略之一。由于不同动物类群携带不同密度的寄生虫，所以理毛行为有可能表现出种间差异。本文研究表明，扁颅蝠比褐扁颅蝠携带更多体表寄生革螨类，前者理毛行为（舔拭）的频次更高。

舔拭和抓挠是蝙蝠最主要的两种理毛行为，抓挠是对有皮毛覆盖区域的梳理，舔拭是对翼膜和尾膜区域的清理行为，这种差异是由寄生虫在蝙蝠体表寄生的位置决定的。蝠蝇类主要寄生在皮毛覆盖区域，而革螨类主要寄生在翼膜和尾膜区域，抓挠行为主要是针对蝠蝇类，而舔拭主要是针对革螨类的理毛行为（ter Hofstede et al, 2004）。扁颅蝠和褐扁颅蝠体表都只有革螨类而没有蝠蝇类寄生虫，本文研究结果证实，它们投入到两种理毛行为方式上的时间和频次均呈现差异，舔拭是它们防御革螨类的主要理毛行为。但是，这两种蝙蝠虽没有携带蝠蝇类寄生虫，也呈现出一定频率与时长的抓挠理毛行为，且存在种间差异，这可能说明理毛行为不仅仅是针对体表寄生虫的一种行为反应。

关于动物理毛行为的生理学机制主要有两种：中枢调节理论（Colbern & Gispen, 1988; Fentress, 1988; Spruijt et al, 1992）和外部刺激调节理论（Riek, 1962; Willadsen, 1980; Wikel, 1984）。本文研究的扁颅蝠和褐扁颅蝠种内不同个体的体表寄生虫负荷存在变化，但是其理毛行为没有表现出种内的个体差异，即在种内水平看，寄生虫负荷量对其宿主理

毛行为没有影响，说明这两种扁颅蝠理毛行为可能受到中枢调节。对新热带地区蝙蝠的研究也表明，体表寄生虫的叮咬并不能引起宿主皮肤的疼痛反应（Fritz, 1983; Overal, 1980）；ter Hofstede & Fenton（2005）发现，鼩形长舌叶鼻蝠（*Glossophaga soricina*）与黄肩蝠（*Sturnira lilium*）无论个体是否携带寄生虫（最大寄生虫负荷分别为 3 和 5），种内不同个体都表现出相近的理毛频次与持续时间。但是，Giorgi et al（2001）对携带不同寄生虫负荷水平（无寄生虫、20 只、40 只 3 个梯度）大鼠耳蝠（*Myotis myotis*）理毛行为进行研究，发现寄生虫负荷量显著影响宿主的理毛时间和能量的投入，且两者呈正相关；另外一些学者也发现寄生虫负荷量与理毛行为存在正相关性（Møller, 1991; Mooring, 1995）。这两种不同的结论可能与研究对象本身及其携带寄生虫的种类、数量的多少等有关。携带较大数量寄生虫时，寄生虫数量剧烈变化可能显著影响宿主的理毛行为，可能表现为外部刺激调控机制；而较少数量的寄生虫对宿主理毛行为产生的影响有限，理毛行为主要受中枢神经系统的调控，从而表现为中枢调控机制。

不同动物理毛行为调节机制的差异，可能与理毛行为的启动机制有关，即理毛行为不是单一调节机制控制的结果，它既受寄生虫负荷的影响（外部刺激理论），也受遗传调控（中枢调节理论）。在本文的实验观察中，扁颅蝠和褐扁颅蝠种间理毛行为存在差异。但是，两种蝙蝠种内携带寄生虫与否以及寄生虫负荷量对理毛行为均无显著影响，进一步说明理毛行为不仅仅是外部刺激引起，同时也是一种习惯性（或者遗传）的行为，受遗传与寄生虫负荷的共同作用。

致谢：感谢丽水学院韦力、研究生张伟和叶建平在野外调查中给予的帮助，感谢研究生杨剑、谭梁静、陈毅、刘奇、沈琪琦和赵娇在稿件修改中给予的协助。

参考文献：

Clayton DH, Lee PLM, Tompkins DM, Brodie ED. 1999. Reciprocal natural selection on host-parasite phenotypes. *The American Naturalist,* **154**(3): 262-270.

Colbern DL, Gispen WH. 1988. Neural mechanisms and biological significance of grooming behavior. *Annals of the New York Academy of Scinces,* **525**(1): 1-436.

Eckstein RA, Hart BL. 2000. Grooming and control of fleas in cats. *Appllied Animal Behaviour Science,* **68**(2): 141-150.

Fentress JC. 1988. Expressive contexts, fine structure, and central mediation of rodent grooming. *Annals of New York Academy of Sciences,* **525**(1): 18-26.

Fritz GN. 1983. Biology and ecology of the bat flies (Diptera: Streblidae) on bats of the genus *Carollia*. *Journal of Medical Entomology,* **20**(1): 1-10.

Giorgi MS, Arlettaz R, Christe P, Vogel P. 2001. The energetic grooming costs imposed by a parasitic mite(*Spinturnix myoti*)upon its bat host (*Myotis myotis*). *Procreedings of the Royal Society B: Biological Sciences,* **268**(1480): 2071-2075.

Hart BL. 1992. Behavioral adaptations to parasites: an ethological approach. *The Journal of Parasitology,* **78**(2): 256-265.

Hart BL. 1997. Behavioural defence. *In*: Clayton DH, Moore J. Host-Parasite Evolution: General Principles and Avian Models. New York: Oxford University Press, 59-77.

ter Hofstede HM, Fenton MB. 2005. Relationships between roost preferences, ectoparasite density, and grooming behaviour of neotropical bats. *Journal of Zoology,* **266**(4): 333-340.

ter Hofstede HM, Fenton MB, Whitaker JO. 2004. Host and host-site specificity of bat flies (Diptera: Streblidae and Nycteribiidae) on Neotropical bats (Chiroptera). *Canadian Journal of Zoology,* **82**(4): 616-626.

Møller AP. 1991. The preening activity of swallows, *Hirundo rustica*, in relation to experimentally manipulated loads of haematophagous mites. *Animal Behaviour,* **42**(2): 251-260.

Mooring MS. 1995. The effect of tick challenge on grooming rate by impala. *Animal Behaviour,* **50**(2): 377-392.

Mooring MS, Hart BL. 1995. Costs of allogrooming in impala: distraction from vigilance. *Animal Behaviour,* **49**(5): 1414-1416.

Mooring MS, Samuel WM. 1998. Tick-removal grooming by elk(*Cervus elaphus*): testing the principles of the programmed-grooming hypothesis. *Canadian Journal of Zoology,* **76**(4): 740-750.

Mooring MS, Samuel WM. 1999. Premature loss of winter hair in free-ranging moose(*Alces alces*)infested with winter ticks (*Dermacentor albipictus*) is correlated with grooming rate. *Canadian Journal of Zoology,* **77**(1): 148-156.

Mooring MS, Benjamin JE, Harte CR, Herzog NB. 2000. Testing the interspecific body size principle in ungulates: the smaller they come, the harder they groom. *Animal Behaviour,* **60**(1): 35-45.

Mooring MS, Hart BL, Fitzpatrick TA, Reisig DD, Nishinira TT, Fraser IJ, Benjamin JE. 2006. Grooming in desert bighorn sheep (*Ovis canadensis mexicana*) and the ghost of parasites past. *Behavioral Ecology,* **17**(3): 364-371.

Overal WL. 1980. Host-relations of the bat fly *Megistopoda aranea*(Diptera: Streblidae)in Panama. *University of Kansas Science Bulletin,* **52**(1): 1-20.

Reckardt K, Kerth G. 2007. Roost selection and roost switching of female

Bechstein's bats (*Myotis bechsteinii*) as a strategy of parasite avoidance. *Oecologia,* **154**(3): 581-588.

Riek RF. 1962. Studies on the reactions of animals to infestation with ticks. VI. Resistance of cattle to infestation with the tick Boophilus microplus (Canestrini). *Australian Journal of Agricultural Research,* **13**(3): 532-550.

Ritter RC, Epstein AN. 1974. Saliva lost by grooming: a major item in the rat's water economy. *Behavioral Biology,* **11**(4): 581-585.

Spruijt BM, van Hooff JA, Gispen WH. 1992. Ethology and neurobiology of grooming behavior. *Physiological Reviews,* **72**(3): 825-852.

Tian ZZ, Jin DC, Zhang SY, Zhang LB. 2009. A new species of *Macronyssus*(Mesostigmata, Macronyssidae)from China with redescription of *Macronyssus radovskyi*. *Acta Zootaxonomica Sinica,* **34**(3): 415-422. [田珍灶, 金道超, 张树义, 张礼标. 2009. 中国巨刺螨属一新种和雷氏巨刺螨的重新描述(中气门目, 巨刺螨科). 动物分类学报, **34**(3): 415-422.]

Wikel SK. 1984. Immunomodulation of host responses to ectoparasite infestation-An overview. *Veterinary Parasitology,* **14**(3-4): 321-339.

Willadsen P. 1980. Immunity to ticks. *Advances in Parasitology,* **18**: 293-313.

Zhang GL, Tang ZH, Hong TY, Yang J, Zeng Y, Tan LJ, Liu Q, Chen Y, Shen QQ, Zhang LB. 2013. Host selection of ectoparasitic gamasid mites on *Tylonycteris pachypus* and *T. robustula*. *Zoological Research,* **34**(1): 21-26. [张光良, 唐占辉, 洪体玉, 杨剑, 曾玉, 谭梁静, 刘奇, 陈毅, 沈琪琦, 张礼标. 2013. 扁颅蝠和褐扁颅蝠体表寄生革螨的宿主选择. 动物学研究, **34**(1): 21-26.]

Zhang LB, Liang B, Zhou SY, Lu LR, Zhang SY. 2004. Group structure of lesser flat-headed bat *Tylonycteris pachypusa* and greater flat-headed bat *T. robustula*. *Acta Zoologica Sinica,* **50**(3): 326-333. [张礼标, 梁冰, 周善义, 卢立仁, 张树义. 2004. 扁颅蝠与褐扁颅蝠的集群结构. 动物学报, **50**(3): 326-333.]

Zhang LB, Parsons S, Daszak P, Wei L, Zhu GJ, Zhang SY. 2010. Variation in the abundance of ectoparasitic mites of flat-headed bats. *Journal of Mammalogy,* **91**(1): 136-143.

动 物 学 研 究 2013，Dec. 34(6): 601−609 CN 53-1040/Q ISSN 0254-5853
Zoological Research DOI:10.11813/j.issn.0254-5853.2013.6.0601

广西弄岗喀斯特森林繁殖鸟群落的集团结构

陆 舟[1], 杨 岗[1], 赵东东[1], 吴映环[1], 蒙渊君[2], 周 放[1,*]

1. 广西大学 动物科学技术学院，广西 南宁 530005
2. 广西弄岗国家级自然保护区管理局，广西 龙州 532400

摘要：于 2010、2011 和 2012 年 5—7 月在广西弄岗国家级自然保护区对喀斯特森林繁殖鸟类群落的集团结构进行了研究。对 44 种繁殖鸟类的取食方式、取食基层和取食高度进行聚类分析和主成分分析。其结果如下：（1）鸟类群落可分为 6 个取食集团，分别为地面取食集团、下层取食集团、上层取食集团、多层取食集团、树干取食集团和空中出击集团；（2）与其他森林类型的鸟类群落集团结构相比，喀斯特季节性雨林的鸟类群落以中、下层取食鸟类为主，多层取食集团次之。其原因可能是：弄岗喀斯特森林植被结构和鸟类食性特点形成了中下层取食的鸟类种数占优势的现象；鸟类以扩展各自生态位宽度方式来缓解竞争压力，从而形成了多层取食集团这一特点。

关键词：弄岗自然保护区；喀斯特森林；繁殖鸟群落；集团；主成分分析
中图分类号：Q958.1；Q959.7 **文献标志码**：A **文章编号**：0254-5853-(2013)06-0601-09

Guild structure of forest breeding bird community in Nonggang Nature Reserve of Guangxi

Zhou LU[1], Gang YANG[1], Dong-Dong ZHAO[1], Ying-Huan WU[1], Yuan-Jun MENG[2], Fang ZHOU[1,*]

1. *College of Animal Sciences and Technology*, *Guangxi University*, *Nanning* 530005, *China*
2. *Nature Reserve Management Bureau of Nonggang*, *Longzhou County* 532400, *China*

Abstract: Surveys about the breeding bird guild structure in karst forest of Nonggang Nature Reserve, Guangxi Zhuang Autonomous Region, were conducted successively in May-July 2010, 2011 and 2012. The feeding modes, foraging strata and foraging heights of 44 breeding bird species were analyzed by clustering and principal component method. The results indicated that the avian community could be divided into 6 guilds, including ground feeding guild, lower feeding guild, upper feeding guild, multilayer feeding guild, trunk feeding guild and air strike guild. Depending on the vegetation structure of Nonggang karst forest and feeding habits, middle layer, lower layer and multilayer feeding guilds were dominant in the karst monsoon forest. Data suggests that the birds tried to alleviate competition pressures by increasing niche breadth, so multilayer feeding guild was formed.

Keywords: Nonggang Nature Reserve; Karst forest; Breeding bird community; Guild; Principal component analysis

鸟类集团（guild）是指一组鸟类的集合。在该集合中所有的个体均以相似的方式利用相似的资源（Root, 1967, 2001）。鸟类群落集团（guild）研究是动物群落研究的重要内容。集团是群落的功能单位，群落的集团结构反映了整个群落的营养结构和功能，同时也反映了群落内的种间相互作用。

有关鸟类集团的概念，最早由 Root（1967）在 20 世纪 60 年代提出，随后一些学者开展了大量集团研究。主要有： Holmes et al（1979）用多元方法对鸟类集团结构进行研究；Eckhardt（1979）对科罗拉多石山的两个食虫鸟类集团进行研究；Landre & MacMahon（1980, 1983）对墨西哥索诺拉州橡树林以及北美洲西部林地树栖鸟类的鸟类集团进行研究； Waugh & Hails（1983）对鸟类觅食集团进行研究；Wagner（1981）对橡木林地食虫鸟类集团结构的季节性变化进行研究。

国内从20世纪80年代开始进行鸟类集团探讨，其主要内容包括：对次生林中鸟类集团结构、食性

收稿日期：2013-04-25；接受日期：2013-07-29
基金项目：国家自然科学基金（31172123）
*通信作者（Corresponding author），E-mail: zhoufang@gxu.edu.cn

及季节变化的研究（Gao et al, 1990；Luo & Yang, 1995；Liu et al, 2009；Wang et al, 2010）；对城市园林鸟类集团结构、取食、生态位格局及营巢等方面的研究（Li et al, 2009；Sun et al, 1999；Wang et al，2004；Wang et al，2012）；对小兴安岭北部夏季森林及华北平原耕作区鸟类群落空间集团及生态位的研究（Chen et al, 1993；Fan et al，2008）；对针叶林鸟类集团垂直空间的研究（Yan et al，2012）。针对常绿阔叶林鸟类集团结构的研究较少，仅有两篇报道（Liu & Han，2008；Zhou，1987）。

我国是世界上喀斯特分布面积最大的国家，从热带到寒带各种喀斯特地貌类型齐全。广西西部是我国喀斯特地貌的主要分布区。喀斯特地区地表水缺乏，土壤形成困难却容易丢失，是一种脆弱的，一旦遭到破坏就很难恢复的生态系统。如何保护现有的喀斯特森林和恢复已被破坏的喀斯特森林，已成为学术界的热点。喀斯特森林鸟类是喀斯特森林生态系统中的关键物种，在森林恢复和维持中发挥重要的作用。本研究针对喀斯特北热带季节性雨林的鸟类集团进行研究，对保护喀斯特森林生态系统具有重要意义。

位于广西西部的弄岗自然保护区地处我国热带北缘，喀斯特地貌典型，是中国面积最大、保存最完好的喀斯特北热带季节性雨林保护区。于 2010—2012 年的 5 月至 7 月对弄岗自然保护区喀斯特森林繁殖鸟类群落进行了研究，结果如下。

1 研究地区与方法

1.1 研究地区

广西弄岗国家级自然保护区（N22°13′56″~22°39′09″，E106°42′28″~107°04′54″）位于广西西南部，跨崇左市的龙州和宁明两县，总面积 10 077.5 hm^2。保护区属典型喀斯特地貌，地处我国热带北缘，同时具有热带向亚热带过渡的特点，以北部湾地区植物区系成分和南海地区植物成分为主，是热带向亚热带过渡的典型地带。保护区内岩溶发育良好，山峰海拔一般为 300~600 m。森林覆盖率大于 90%，主要属于北热带喀斯特季节性雨林。喀斯特季节性雨林中以热带植物分布区类型占绝对优势，是从亚热带过渡到热带北缘的范围（Hu et al，1980）。这种季节性雨林是受干湿季交替的气候影响形成的一种独特森林类型。植物分布有典型热带性的龙脑香科的望天树（*Parashorea chinensis*）和热带性较强的椴树科的蚬木（*Burretiodendron hsienmu*）、大戟科的肥牛树（*Cephalomappa sinensis*）、闭花木（*Cleistanthus sumatranus*）和山竹子科的金丝李（*Garcinia paucinervis*）等，也分布有华南地区亚热带科的代表属，如木兰科的木兰属、樟科的樟属、茶科的山茶属、壳斗科的拷属等（Deng et al，1988）。

1.2 研究方法

1.2.1 鸟类的取食行为数据收集

弄岗喀斯特森林地貌具有漏斗森林、洼地森林、盆地森林、槽谷森林四种主要森林类型。每一种森林类型取 3 个样方，共 12 个具有代表性的样方。由于喀斯特森林林木稠密，山壁陡峭，可视距离小，较为开阔地多为狭长形，因此，根据实际地形，每个样方面积取 0.5 hm^2（50 m×100 m），共 6 hm^2。2010 年至 2012 年的 5—7 月，对鸟类的取食情况进行观察，每月观察 30 天，每天观察 8 h，累计观察 2160 h。参考 Zhou（1987）的方法并结合本地情况，划分取食方式、取食基质、取食高度等参数。

取食方法分为：（1）拾取：用嘴直接从基层表面啄取静止或移动极缓慢的食物；（2）探取：用嘴或爪探取基层表面之下的食物，然后啄食；（3）出击：静栖于某处，见到猎物时飞出捕取，然后再飞回原处或附近；（4）飞取：在空中鼓翼停留取食静止的食物；（5）追捕：在空中或地面追赶捕食迅速移动的猎物。

取食基质分为：（1）叶层：包括植物叶子、直接着生叶子的细枝、花和果；（2）小枝：直径小于 1.5 cm 的树枝；（3）粗枝：直径小于 15 cm 但大于 1.5 cm 的侧枝，以及小于 7 cm 的小树主干；（4）树干：直径大于 15 cm 的所有枝、干，以及大于 7 cm 的小树主干；（5）地面；（6）空中。

取食高度分为：根据喀斯特季节性雨林植被的垂直分层结构和鸟类群落的组成及活动特性，将鸟类的活动取食高度分为 6 个层次。（1）地面；（2） 0~1.5 m；（3） 1.6~4 m；（4） 4.1~7 m；（5） 7.1~15 m；（6） 大于 15 m。

取食方式、取食基质主要通过直接观察，取食高度4 m以下的利用皮尺测量（误差＜2 mm），4 m高度以上利用大友测高仪（LM50）测量（误差＜2 mm）。

1.2.2 数据处理

将所记录鸟种的 17 项取食行为频次转换为百分比数据（取食方法、取食基质和取食高度各为 100%，共 300%）。对鸟类定量数据进行开平方转换（Zhou，1987），利用 SPSS 19.0 软件和 R 2.13.1 （R Development Core Team 2011）软件

进行聚类分析（聚类标准采用欧式距离，聚类方法采用最远距离法）和主成分分析，其结果用于集团划分和研究群落内各鸟类的生态关系。

2　结　果

2.1　鸟类群落组成

弄岗自然保护区喀斯特森林繁殖鸟类群落由 44 种鸟类组成（由于猛禽数量较少且获得数据也较少，故本文不考虑猛禽）（表 1），各鸟种 17 项取食行为参数的百分比数据见附表 1。

2.2　聚类结果

由聚类分析树状图（图 1）可知，当欧氏距离 *d*=25 时，群落分为两大集团。一类为由棕胸蓝姬鹟、铜蓝鹟、小仙鹟、棕腹大仙鹟和方尾鹟 5 种鸟类组成的空中出击取食类群；另一类以地面、树上为取食基质的鸟类共 39 种组成的类群。

表 1　弄岗自然保护区森林繁殖鸟类群落组成种

Table 1　Compositions of forest breeding bird community in Nonggang Nature Reserve

种名 Species name	学名 Scientific name	缩写 Abbr.	种名 Species name	学名 Scientific name	缩写 Abbr.
白鹇	*Lophura nycthemera*	Lny	棕腹大仙鹟	*Niltava davidi*	Nda
原鸡	*Gallus gallus*	Gga	方尾鹟	*Culicicapa ceylonensis*	Cce
绿翅金鸠	*Chalcophaps indica*	Cin	白喉扇尾鹟	*Rhipidura albicollis*	Ral
红头咬鹃	*Harpactes erythrocephalus*	Her	画眉	*Garrulax canorus*	Gca
大拟啄木鸟	*Megalaima.virens*	Mvi	棕胸雅鹛	*Pellorneum tickelli*	Pti
白眉棕啄木鸟	*Sasia ochracea*	Soc	棕颈钩嘴鹛	*Pomatorhinus ruficollis*	Pru
栗啄木鸟	*Celeus brachyurus*	Cbr	红头穗鹛	*Stachyris ruficeps*	Sru
黄嘴栗啄木鸟	*Blythipicus pyrrhotis*	Bpy	黑头穗鹛	*Stachyris nigriceps*	Sni
长尾阔嘴鸟	*Psarisomus dalhousiae*	Pda	弄岗穗鹛	*Stachyris nonggangensis*	Sno
赤红山椒鸟	*Pericrocotus flammeus*	Pfl	纹胸鹛	*Macronous gularis*	Mgu
灰喉山椒鸟	*Pericrocotus solaris*	Pso	红嘴相思鸟	*Leiothrix lutea*	Llu
白喉冠鹎	*Alophoixus pallidus*	Apa	灰眶雀鹛	*Alcippe morrisonia*	Amo
栗背短脚鹎	*Hemixos castanonotus*	Hca	栗耳凤鹛	*Yuhina castaniceps*	Yca
绿翅短脚鹎	*Hypsipetes mcclellandii*	Hmc	白腹凤鹛	*Erpornis zantholeuca*	Eza
黑短脚鹎	*Hypsipetes leucocephalus*	Hle	短尾鹪鹛	*Napothera brevicaudata*	Nbr
橙腹叶鹎	*Chloropsis hardwickii*	Cha	大山雀	*Parus major*	Pma
钩嘴林鵙	*Tephrodornis gularis*	Tgu	黄颊山雀	*Parus spilonotus*	Psp
白翅蓝鹊	*Urocissa whiteheadi*	Uwh	冕雀	*Melanochlora sultanea*	Msu
白尾蓝地鸲	*Cinclidium leucurum*	Cle	绒额䴓	*Sitta frontalis*	Sfr
棕胸蓝姬鹟	*Ficedula hodgsonii*	Fho	纯色啄花鸟	*Dicaeum concolor*	Dco
铜蓝鹟	*Eumyias thalassina*	Eth	黄腹花蜜鸟	*Cinnyris jugularis*	Cju
小仙鹟	*Niltava macgrigoriae*	Nma	叉尾太阳鸟	*Aethopyga christinae*	Ach

以所有鸟类之间的欧氏距离平均数 12.4 作为划分集团的标准（Holmes et al，1979），可以把群落分为 6 个集团。根据主要取食高度和主要取食方法，对这 6 个集团进行归类，分别为：

（1）地面取食集团：由白鹇、弄岗穗鹛、短尾鹪鹛、原鸡、绿翅金鸠和画眉 6 种鸟类组成，占鸟类总物种数的 13.6%。其中，白鹇和弄岗穗鹛在 *d*=0.9 时聚合，在 *d*=1.5 时和短尾鹪鹛聚合；弄岗穗鹛在 *d*=2.2 时与短尾鹪鹛聚合。这三种鸟类的取食行为相似程度极高，它们主要在地面啄取食物；原鸡也在地面取食，但大多用嘴或爪探取食物；绿翅金鸠和画眉虽然主要在地面取食，但有时也在树上取食。

（2）下层取食集团：由红头穗鹛、黑头穗鹛、棕胸雅鹛、灰眶雀鹛和白尾蓝地鸲 5 种鸟类组成，占鸟类总物种数的 11.4%。其中，红头穗鹛和黑头穗鹛在 *d*=1.7 时聚合；棕胸雅鹛和灰眶雀在 *d*=2.4 时聚合，这 2 组鸟类的取食行为相似程度极高。红头穗鹛、黑头穗鹛、灰眶雀鹛、棕胸雅鹛主要在森林下层的树叶、灌丛或低矮小树枝上取食；白尾蓝地鸲主要在森林下层较高的树叶、小树枝上取食，有时也到地面取食。

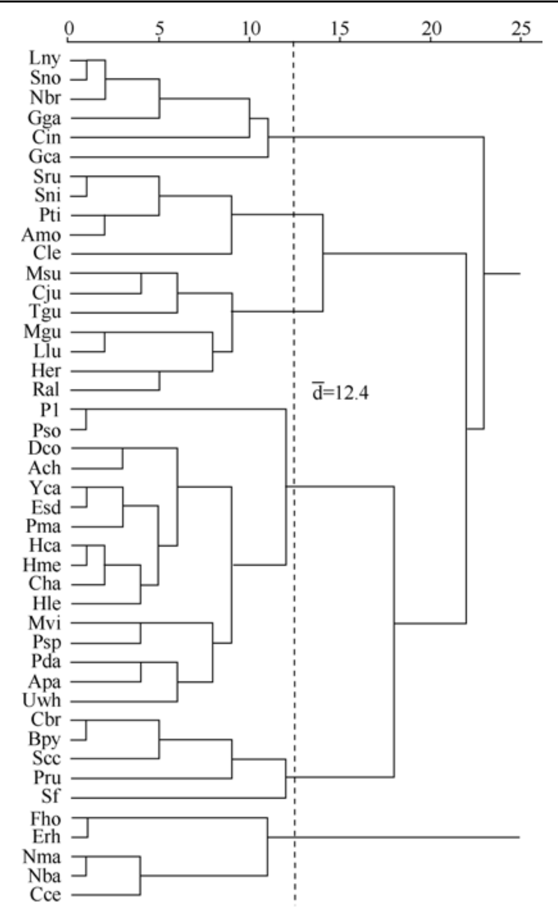


图 1 群落中鸟类聚类树状图

Figure 1 Dendrogram of bird community based on Euclidean distances

（3）上层取食集团：由冕雀、黄腹花蜜鸟、钩嘴林鵙、纹胸鹛、红嘴相思鸟、红头咬鹃和白喉扇尾鹟 7 种鸟类组成，占鸟类总物种数的 15.9%。这 7 种鸟类主要在远离主干的树冠层、小树枝上取食。

（4）多层取食集团：由赤红山椒鸟、灰喉山椒鸟、纯色啄花鸟、叉尾太阳鸟、栗耳凤鹛、白腹凤鹛、大山雀、栗背短脚鹎、绿翅短脚鹎、橙腹叶鹎、黑短脚鹎、大拟啄木鸟、黄颊山雀、长尾阔嘴鸟、白喉冠鹎和白翅蓝鹊 16 种鸟类组成，占鸟类总物种数的 36.4%。其中，赤红山椒鸟和灰喉山椒鸟在*d*=1.4时聚合；栗耳凤鹛和白腹凤鹛在*d*=1.5时聚合；栗背短脚鹎和绿翅短脚鹎在*d*=1.1 时聚合，这 3 组鸟类取食行为相似程度极高。这16种鸟类利用森林多个层次的资源，在森林的上层、中层和下层取食。

这一取食集团的鸟类种数最多，达 16 种，是各取食集团中所占比例最大的集团。如果欧氏距离取 *d*=9 时，可细分为 3 个小集团。分别是：

① 由赤红山椒鸟和灰喉山椒鸟 2 种鸟类组成。它们利用森林的多个层次取食同时，较多偏向上层取食，有时也在空中出击捕食昆虫。

② 由纯色啄花鸟、叉尾太阳鸟、栗耳凤鹛、白腹凤鹛、大山雀、栗背短脚鹎、绿翅短脚鹎、橙腹叶鹎和黑短脚鹎 9 种鸟类组成。这 9 种鸟类在森林内较为均匀地利用上中下各层取食。纯色啄花鸟、叉尾太阳鸟、栗背短脚鹎、绿翅短脚鹎、橙腹叶鹎和黑短脚鹎有时也在空中悬停取食花叶上的食物。

③ 大拟啄木鸟、黄颊山雀、长尾阔嘴鸟、白喉冠鹎和白翅蓝鹊 5 种鸟类组成。这些鸟类利用森林的多个层次取食同时，较多偏向中上层取食。

（5）树干取食集团：由栗啄木鸟、黄嘴栗啄木鸟、白眉棕啄木鸟、棕颈钩嘴鹛和绒额鳾 5 种鸟类组成，占鸟类总物种数的 11.4%。其中，栗啄木鸟和黄嘴栗啄木鸟在 *d*=1.4 时聚合，取食行为相似程度极高。栗啄木鸟、黄嘴栗啄木鸟和白眉棕啄木鸟主要在树干上用嘴探取食物；棕颈钩嘴鹛和绒额鳾主要在树干上用嘴拾取食物，棕颈钩嘴鹛有时也到地面取食。

（6）空中出击集团：由棕胸蓝姬鹟、铜蓝鹟、小仙鹟、棕腹大仙鹟和方尾鹟 5 种鸟类组成，占鸟类总物种数的 11.4%。其中，棕胸蓝姬鹟和铜蓝鹟，小仙鹟和腹大仙鹟分别在 *d*=1.2 时聚合，这两组鸟类取食行为相似程度极高。5 种鸟类主要取食方式为捕食空中的昆虫。

2.3 主成分分析结果

前 3个 主成分对应的各项取食行为变量的负荷系数见表 2，各鸟种主成分值的二维分布和三维分布见图 2和图 3。

由表 2可知，对含信息最多的主成分Comp.1影响比较大的是地面取食基层和 0~1.5 m和 7 m以上区间取食高度，图 2中 Y1 主要反映了各种鸟类取食高度，从右往左，取食高度逐渐升高，总体上反映了鸟类取食高度分布情况，与聚类分析集团划分基本相符。对主成分Comp.2影响较大的是取食方式，二维图主要反映了每种鸟的取食高度和取食方式。

由图 3 可看出，群落的三维分布比二维分布信息量增加了18.05%。各取食高度、取食方式和取食基质得到较好的反映，与聚类分析集团划分更为相符，两种方法获得的结果得到了相互印证。

3 讨 论

鸟类的分布和多样性与植被的类型、结构特征

表 2　各项取食行为对前 3 个主成分的负荷量

Table 2　Load capacities of the first 3 principal components of each feeding behavior

项目 Items	Comp.1	Comp.2	Comp.3
拾取 Glean	0.065	0.509	−0.012
探取 Probe	0.112	−0.077	−0.418
出击 Attack	−0.105	−0.479	0.218
飞取 Hover	−0.205	0.095	0.103
追捕 Pursue	−0.008	−0.108	−0.045
叶层 Foliage layer	−0.215	0.399	0.262
小枝 Sprig	−0.212	0.264	−0.082
粗枝 Asperata	−0.079	0.008	−0.467
树干 Trunk	−0.007	−0.097	−0.416
地面 Ground	0.402	−0.048	−0.138
空中 Air	−0.107	−0.478	0.217
0−1.5 m	0.436	−0.006	−0.086
1.6−4 m	0.141	0.102	0.310
4.1−7 m	−0.111	−0.025	0.206
7.1−10 m	−0.385	−0.041	−0.131
10.1−15 m	−0.389	−0.013	−0.236
>15 m	−0.372	−0.049	−0.117
特征向量　Eigenvector	2.106	1.836	1.752
贡献率 Contribution rate	26.10	19.83	18.05
累积贡献率 Accumulative contribution rate	26.10	45.93	63.98

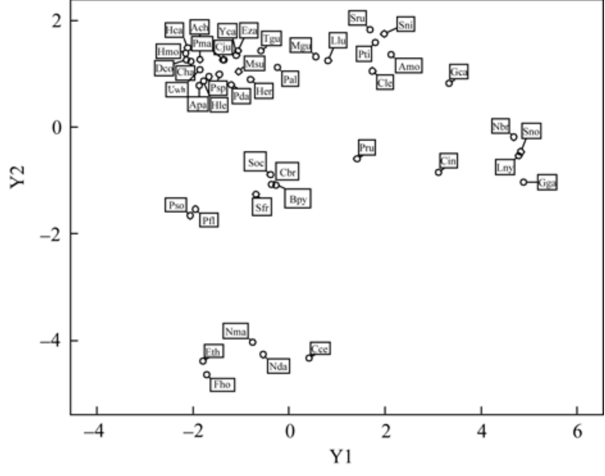


图 2　44 种鸟的二维排序（占总信息的 45.93%）

Figure 2　Ordination of 44 bird species

(45.93% of gross information content)

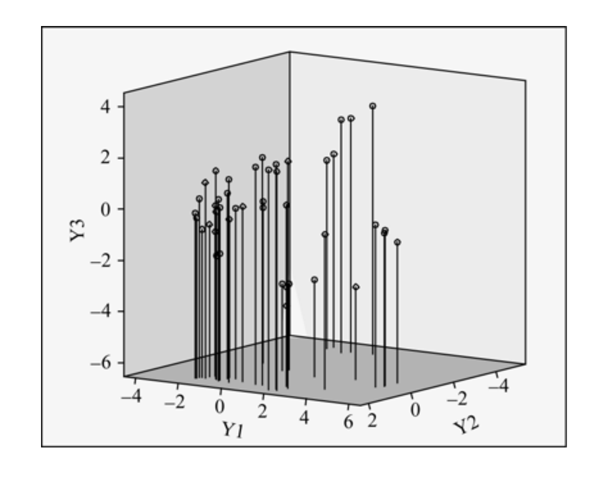


图 3　44 种鸟三维排序（占总信息 63.98%）

Figure 3　Three-dimensional Ordination of 44 bird species

(63.98% of gross information content)

密切相关（Andesron & Shugart，l974；Bi et al，2003；Gao et al，2003；James，1982；Zhou，1986）。同样，植被的结构对鸟类集团的结构产生较大影响（Ding et al，2007；Richard et al，1998）。由图1可知，弄岗喀斯特森林鸟类中利用中、下层取食的鸟类种数达总数的61.4%。弄岗喀斯特森林鸟类主要以食虫鸟类为主，达 87.1%，食果实鸟类较少，为 10.9%（Jiang，2007）。森林的上层植物以蚬木、肥牛树等植物为优势种，结浆果的植物较少，中下层植物上常有附生植物如兰科、天南星科、蕨类、藤本植物和苔鲜植物，环境较为阴暗潮湿，分布有大量的昆虫种类，为鸟类提供较为丰富的食物资源和隐蔽的栖息条件。这种植被结构和鸟类食性特点形成了弄

岗喀斯特森林鸟类中、下层取食的鸟类种数占优势的现象。

与其他不同森林类型中下层取食鸟类和多层取食鸟类比例进行比较（Gao et al，1990；Liu et al，1989；Liu & Han，2008；Liu et al，2009；Zhou，1987）（表3），我们发现，中下层取食鸟类比例最高的是云南哀牢山中山湿性常绿阔叶林（72.6％），广西弄岗喀斯特季节性雨林次之（61.4％）。多层取食鸟类比例最高的是广西弄岗喀斯特季节性雨林（36.4％），广东鼎湖山季风常绿阔叶林次之（10.7％），而在落叶阔叶林和针叶林中比例为0。在几种森林类型中，中下层鸟类所占比例都较高，尤其是云南哀牢山中山湿性常绿阔叶林和弄岗喀斯特季节性雨林的比例都大于61％。可见，在这两种森林类型中，中下层鸟类是其鸟类群落的主要组成。这可能由于季节性雨林和中山湿性常绿阔叶林的中下层植被的丰富度高，拥有较高的生物量，可为各种食性的鸟类提供各自的生态位，因而比次生林和针叶林较为单一的中下层植被拥有更多的中下层鸟类种类。

表3 不同森林类型中中下层取食鸟类比例和多层取食鸟类比例

Table 3 Proportions of middle layer, lower layer and multilayer feeding guild in different forest types

森林类型 Forest types	中下层取食鸟类比例（%） Proportions of middle and lower layer feeding guild（%）	多层取食鸟类比例（%） Proportion of multiplayer feeding guild（%）
广西弄岗喀斯特季节性雨林 Karst seasonal rainforest in Nonggang，Guangxi	61.4	36.4
云南哀牢山中山湿性常绿阔叶林* Mid-mountain humid evergreen broadleaf forest in Ailao Mountains, Yunnan	72.6	1.6
广东鼎湖山季风常绿阔叶林* Monsoon evergreen broadleaf forests in Dinghu Mountain, Guangdong	39.3	10.7
安徽大别山山地次生落叶阔叶林* Mountainous secondary deciduous broadleaf forests in Dabie Mountain, Anhui	46.2	0.0
黑龙江山地次生阔叶林* Mountainous secondary broadleaf forests in Heilongjiang	47.6	0.0
山西华北落叶松林* Larix principis-rupprechtii forests in Shanxi	45.0	0.0

*表中各数据根据文献（Zhou，1987；Liu et al，1989；Gao et al，1990； Liu & Han，2008；Liu et al，2009）中的数据进行统计计算得出。

*Data resources: Zhou, 1987; Liu et al, 1989; Gao et al, 1990; Liu & Han, 2008;Liu et al, 2009.

由聚类分析图可知，鸟类群落中，共有12组鸟类的聚合水平很低（在d<2.5时聚合），它们的取食行为格局非常相似，潜在的竞争压力非常大。但是，同一个集团的成员以相似的方式利用相似的资源，并不意味着相似的利用环境的所有资源（Zhou, 1987）。例如，地面取食集团中，白鹇、弄岗穗鹛和短尾鹪鹛的取食行为格局非常相似，其生态位非常接近。但是进一步观察，白鹇主要在山沟底部的灌丛中取食，以昆虫、植物嫩芽、果实、种子为主要食物；弄岗穗鹛和短尾鹪鹛主要在林区乔木盖度、落叶盖度较高的岩石上取食，昆虫是其主要食物。白鹇利用取食地和食性的差异来缓解与弄岗穗鹛和短尾鹪鹛的竞争以达到共存。有关弄岗穗鹛和短尾鹪鹛的生态位及竞争关系，拟另撰文讨论。

另外，红头穗鹛和黑头穗鹛；赤红山椒鸟和灰喉山椒鸟；栗耳凤鹛和白腹凤鹛；栗背短脚鹎和绿翅短脚鹎；栗啄木鸟和黄嘴栗啄木鸟；棕胸蓝姬鹟和铜蓝鹟；小仙鹟和棕腹大仙鹟这 7 组鸟类在形态、习性和取食行为格局上都非常相似。有研究表明，生态位重叠并不一定伴随着竞争（Colwell & Futuyma，1971；Hurlbert，1978；Lawlor，1980；Van der meer，1972）。例如，如果食物资源很丰富，就可以能够容许较大的食物生态位重叠。究竟是何原因，以及它们是采取压缩生态位宽度策略，或是采取扩展各自的生态位宽度，或者是采取其它的策略，仍需进一步研究。

植物群落的多样性越高，空间层次结构越复杂，鸟类群落集团的划分就越细致（Chen，et al，1993）。广西弄岗喀斯特季节性雨林鸟类群落集团划分的多层取食集团显然并非如此。这一集团的鸟类充分地利用各层的资源，很难细致合理地把它们分成各层取食集团。这在其他森林类型的取食集团中是很少见的。由此，可看出，多层取食集团作为喀斯特季节雨林鸟类群落集团的一个特点，不同于其他森林类型的鸟类取食集团。

喀斯特季节性雨林分为乔木层、灌木层和草

本地被层 3 层植物。乔木层按照其高度又可进一步划分为 3 个亚层。弄岗喀斯特森林鸟类群落组成以中下层鸟类为主要组成。这样，除大于 15 m 高度的第一和第二乔木亚层以外，主要有第三乔木亚层、灌木层和草本地被层三层结构。在这三层植被结构中，中下层鸟类竞争十分剧烈。由于地面取食集团鸟类只有 6 种（占中下层鸟类种数 22.2%），因此，其他的中下层鸟类（77.8%）在第三乔木亚层和灌木层这两层的竞争更为激烈。在竞争压力下，鸟类有可能采取两种策略来减缓竞争的压力。它们或是通过压缩各自的生态位宽度（May，1976）或是扩展各自的生态位宽度（Zhou & Fang，2000）以达到共存的目的。在各取食集团中，地面取食集团占 13.6%；下层取食集团、树干取食集团和空中出击集团各占 11.4%；上层取食集团占 19.5%；多层取食集团占 36.4%。其中多层取食集团的比例远大于前几种取食集团。由此可知，在喀斯特季节性雨林中，部分鸟类是采取扩展其生态位宽度的策略来减缓竞争压力。部分中下层鸟类扩展各自的生态位宽度利用森林的多层资源取食来缓解竞争压力，从而形成了喀斯特森林鸟类的多层取食集团这一特点。

参考文献：

Andesron SH, Shugart HH Jr. 1974. Habitat selection of breeding birds in an east Tennessee Deciduous forest. *Ecology,* **55**(4): 828-837.

Bi ZL, Zhang ZW, Song J. 2003. Preliminary study on the relationship between the bird community and vegetation structure at Dongling mountain of Beijing. *Journal of Beijing Normal University* (Natural Science), **39**(5): 663-668. [毕中霖, 张正旺, 宋杰. 2003. 北京东灵山地区鸟类群落与栖息环境的关系研究. 北京师范大学学报(自然科学版), **39**(5): 663-668.]

Chen HP, Gao ZX, Li F, Song HD, Li XM, Liu ZT. 1993. Study on space guild of forest bird community in summer in Northeast Xiaoxingan mountains. *Journal of Northeast Forestry University,* **21**(2): 41-48. [陈化鹏, 高中信, 李枫, 宋慧东, 李先敏, 刘占涛. 1993. 小兴安岭北部夏季森林鸟类群落空间集团结构研究. 东北林业大学学报, **21**(2): 41-48.]

Colwell RK, Futuyma DJ. 1971. On the measurement of niche breadth and overlap. *Ecology,* **52**(4): 567-576.

Deng ZQ, Hu CG, Li KY, Su ZM, Zhao TL, Huang QC. 1988. Report on comprehensive survey of Nonggang Reserve, Guangxi. *Guihaia,* (S1): 1-214. [邓自强, 胡长庚, 李克因, 苏宗明, 赵天林, 黄庆昌. 1988. 广西弄岗自然保护区综合考察报告. 广西植物, (S1): 1-214.]

Ding TS, Liao HC, Yuan HW. 2007. Breeding bird community composition in different successional vegetation in the mountain coniferous forest zone of Taiwan. *Forest Ecology and Management,* **255**(7): 2038-2048.

Eckhardt RC. 1979. The adaptive syndromes of two guilds of insectivorous birds in the Colorado Rock Mountains. *Ecological Monographs,* **49**(2): 129-149.

Fan XS, Hu DF, Chen HZ, Wang F, Su X. 2008. Study on bloc structure and econiche characteristics of bird communities in the farming areas in north China plain. *Arid Zone Research,* **25**(4): 544-549. [范喜顺, 胡德夫, 陈合志, 王峰, 苏鑫. 2008. 华北平原耕作区鸟类群落的集团结构及生态位. 干旱区研究, **25**(4): 544-549.]

Gao W, Wang HT, Sun DT. 2003. The habitat and nest-site selection of Jankowski's bunting. *Acta Ecologica Sinica,* **23**(4): 665-672. [高玮, 王海涛, 孙丹婷. 2003. 栗斑腹鹀的栖息地和巢址选择. 生态学报, **23**(4): 665-672.]

Gao W, Xiang GQ, Shang JC, Feng HL. 1990. On the guild structure and its relationship of secondary forest bird community. *Journal of Northeast Forestry University,* **18**(3): 118-129. [高玮, 相桂权, 尚金城, 冯贺林. 1990. 山地次生林鸟类集团结构及关系的研究. 东北林业大学学报, **18**(3): 118-129.]

Holmes RT, Bonney RE Jr, Pacala SW. 1979. Guild structure of the Hubbard Brook bird community: a multivariate approach. *Ecology,* 60(3): 512-520.

Hu SS, Wang XF. 1980. The phytocoenological features of seasonal rain forest of limestone region in Guangxi. *Journal of North Eastern Forestry Institute,* (4): 11-26. [胡舜士, 王献溥. 1980. 广西石灰岩地区季节性雨林的群落学特点. 东北林学院学报, (4): 11-26.]

Hurlbert SH. 1978. The measurement of niche overlap and some relatives. *Ecology,* **59**(1): 67-77.

James EC. 1982. The ecological morphology of birds: a review. *Annales Zoologici Fennici,* **19**: 265-272.

Jiang AW. 2007. The Study of Understory Birds in Nonggang Karst Forest. Master thesis, Guangxi University, Nanning. [蒋爱伍. 2007. 弄岗喀斯特森林下层鸟类研究. 硕士论文, 广西大学, 南宁.]

Landre PB, MacMahon JA. 1980. Guilds and community organization: analysis of an oak Woodland avifauna in Sonora, Mexico. *The Auk,* **97**: 351-365.

Landre PB, MacMahon JA. 1983. Community organization of arboreal birds in some oak woodlands of western North America. *Ecological Monographs,* **53**(2): 183-208.

Lawlor LR. 1980. Overlap, similarity, and competition coefficients. *Ecology,* **61**(2): 245-251.

Li P, Zhang JC, Li BC, Chris W, Jiang PP, Ding P. 2009. Effects of urbanization on the avian nesting Guilds in Hangzhou. *Zoological Research,* **30**(3): 295-302. [李鹏, 张竞成, 李必成, Chris W, 蒋萍萍, 丁平. 2009. 城市化对杭州市鸟类营巢集团的影响. 动物学研究, **30**(3): 295-302.]

Liu B, Zhou LZ, Wang WG, Shen SB, Han DM. 2009. Seasonal dynamics of the avian guild structure of mountain secondary forest in Dabieshan mountain. *Zoological Research,* **30**(3): 277-287. [刘彬, 周立志, 汪文革, 沈三宝, 韩德民. 2009. 大别山山地次生林鸟类群落集团结构的季节变化. 动物学研究, **30**(3): 277-287.]

Liu H, Han LX. 2008. Birds foraging guilds in Xujiaba evergreen broad-leaved forest of Ailao mountain. *Zoological Research,* **29**(5): 561-568. [刘菡, 韩联宪. 2008. 云南哀牢山徐家坝常绿阔叶林的鸟类取食集团. 动物学研究, **29**(5): 561-568.]

Liu HJ, Shen SY, Han GB, Wu YR, Wu JY. 1989. Research on larch breeding bird populations in Pangquangou Nature Reserve in Shanxi Province. *Journal of Yuncheng Normal College,* (4): 40-48. [刘焕金, 申守义, 韩贵彪, 吴运仁, 武建勇. 1989. 山西省庞泉沟自然保护区华北落叶松林繁殖鸟类群落生的研究. 运城师专学报, (4): 40-48.]

Luo WZ, Yang ZJ. 1995. The study on guild structure of arboreal insectivorous birds of montane second forest in Northern Zhangguangchai maintains. *Journal of Northeast Normal University,* (2): 89-95. [罗维桢, 杨志杰. 1995. 张广才岭北部山地次生林树栖食虫鸟类集团结构的研究. 东北师大学报(自然科学版), (2): 89-95.]

May RM. 1976. Theoretical Ecology. Sun RY translate. Oxford: Blackwell Scientific Publications. [May RM. 1976. 理论生态学. 孙儒泳等译. 北京: 科学出版社.]

Richard MD, Jay BH, Mariko Y. 1998. Associations between breeding bird abundance and stand structure in the White Mountains, New Hampshire and Maine, USA. *Forest Ecology and Management,* **103**(2-3): 217-233.

Root RB. 1967. The niche exploitation pattern of the blue-grey gnatcatcher. *Ecological Monographs,* **37**(4): 317-350.

Root RB. 2001. Guilds. *In*: Levin Holmes RT, Bonney REJ, Pacala SW. Encyclopedia of Biodiversity. San Diego: Academic Press, 3: 295-302.

Sun YM, Liu ZB, Song YJ. 1999. Study on the guild structure of winter birds in Changchun Nanhu park. *Journal of Northeast Normal University (Natural Science Edition),* (2): 85-90. [孙永梅, 刘忠宝, 宋榆钧. 1999. 长春市南湖公园冬季鸟类集团结构的研究. 东北师大学报(自然科学版), (2): 85-90.]

Van der Meer JH. 1972. Niche theory. *Annual Review of Ecology and Systematics,* **3**(1): 107-132.

Wagner JL. 1981. Seasonal changes in guild structure: oak woodland insectivorous birds. *Ecology,* **62**(4): 973-981.

Wang DL, Li K, Zhu WB. 2010. Analysis of feeding characteristics in summer and autumn of the avian community in the Wulonghe NatureReserve. *Journal of Shandong University (Natural Science),* **45**(5): 28-34.
[王德良, 李科, 朱文博. 2010. 五龙河自然保护区鸟类群落夏秋食性特征分析. 山东大学学报(理学版), **45**(5): 28-34.]

Wang JF, Chen Y, Zhang H, Ding HL, Tang SX. 2012. The ecological niche patern of birds in Tiantong national forest park, Zhejiang province. *Journal of Fudan University (Natural Science),* **51**(4): 523-528. [王军馥, 陈宇, 张航, 丁虎林, 唐思贤. 2012. 浙江天童国家森林公园鸟类生态位格局. 复旦学报(自然科学版), **51**(4): 523-528.]

Wang YP, Chen SH, Ding P. 2004. Effects of urbanization on the winter bird foraging guilds. *Journal of Zhejiang University (Science Edition),* **31**(3): 330-336. [王彦平, 陈水华, 丁平. 2004. 城市化对冬季鸟类取食集团的影响. 浙江大学学报(理学版), **31**(3): 330-336.]

Waugh DR, Hails CJ. 1983. Foraging ecology of a tropical aerial feeding bird Guild. *Ibis,* **125**(2): 200-217.

Yan D, Han LX, Cheng C, Li XQ. 2012. The vertical spatial pattern of bird community in spring season in pinus Yunnanensis forests in Zixi mountain area. *Journal of Southwest Forestry University,* **32**(1): 69-73. [岩道, 韩联宪, 程闯, 李兴强. 2012. 紫溪山云南松林春季鸟类的垂直空间分布. 西南林业大学学报, **32**(1): 69-73.]

Zhou F. 1986. Study on the forest breeding bird community in Dinghu mountain. *In*: Study on Tropical and Subtropical Forest Ecosystem (4th set). Haikou: Hainan People's Publishing House, 79-91. [周放. 1986. 鼎湖山森林繁殖鸟类群落的研究. 见: 热带亚热带森林生态系统研究(第4集). 海口: 海南人民出版社, 79-91.]

Zhou F. 1987. Guild structure of the forest bird community in Dinghushan. *Acta Ecologica Sinica,* **7**(2): 176-184. [周放. 1987. 鼎湖山森林鸟类群落的集团结构. 生态学报, **7**(2): 176-184.]

Zhou F, Fang HL. 2000. On the interspecific niche relationship between two species of wren warbler. *Zoological Research,* **21**(1): 52-57. [周放, 房慧伶. 2000. 两种鹪莺的种间生态位关系研究. 动物学研究, **21**(1): 52-57.]

附表 1 鸟类群落中鸟类取食行为百分比数据

Appendix 1 Foraging behaviors(percentage）of bird communities

取食变量 Feeding variable	Lny	Gga	Cin	Her	Mvi	Soc	Cbr	Bpy	Pda	Pfl	Pso	Apa	Hca	Hmc	Hle
拾取 Glean	90.5	63.5	60.8	84.9	93.6	23.4	33.5	38.7	72.4	65.2	60.8	55.3	95.6	96.9	89.8
探取 Probe	8.5	35.0	39.2	15.1	6.4	76.6	66.5	61.3	27.6	0.0	0.0	39.2	0.0	0.0	6.3
出击 Attack	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	30.1	35.3	0.0	0.0	0.0	2.1
飞取 Hover	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	5.5	4.4	3.1	1.8
追捕 Pursue	1.0	1.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	4.7	3.9	0.0	0.0	0.0	0.0
叶层 Foliage layer	0.0	0.0	0.0	81.6	51.4	2.5	7.3	5.6	79.7	27.6	32.0	54.3	58.2	60.9	74.5
小枝 Sprig	0.0	0.0	1.2	11.3	26.3	30.7	8.4	7.1	18.8	30.3	25.3	33.5	35.1	31.5	21.3
粗枝 Asperata	0.0	0.0	33.9	7.1	16.1	34.5	27.3	18.4	1.5	8.7	8.9	12.2	6.7	7.6	0.6
树干 Trunk	0.0	0.0	2.3	0.0	6.2	32.3	57.0	68.9	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
地面 Ground	100.0	100.0	62.6	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
空中 Air	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	33.4	33.8	0.0	0.0	0.0	3.6
0−1.5 m	100.0	100.0	72.4	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
1.6−4 m	0.0	0.0	0.0	6.7	0.0	12.2	7.1	6.0	2.9	0.0	0.0	2.4	2.1	0.0	3.2
4.1−7 m	0.0	0.0	0.0	38.9	0.0	40.5	31.7	32.3	18.4	0.0	2.6	29.1	11.0	9.7	4.0
7.1−10 m	0.0	0.0	20.6	33.2	17.3	24.3	28.9	29.9	28.6	31.3	30.2	22.3	30.1	29.8	38.6
10.1−15 m	0.0	0.0	7.0	12.6	58.8	18.0	27.1	27.2	38.1	56.2	49.8	28.0	41.6	40.4	37.3
>15 m	0.0	0.0	0.0	8.6	23.9	5.0	5.2	4.6	12.0	12.5	17.4	18.2	15.2	20.1	16.9

续表

取食变量 Feeding variable	Cha	Tgu	Uwh	Cle	Fho	Eth	Nma	Nda	Cce	Ral	Gca	Pti	Pru	Sru	Sni
拾取 Glean	98.0	93.4	87.9	71.8	3.8	5.2	8.6	7.1	3.5	80.6	90.7	97.2	58.6	99.3	98.0
探取 Probe	0.0	2.9	11.2	28.2	3.1	5.2	1.2	0.9	2.1	18.7	9.3	2.8	41.4	0.7	2.0
出击 Attack	0.0	0.0	0.0	0.0	92.2	88.1	89.2	92.0	93.6	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
飞取 Hover	2.0	3.7	0.9	0.0	0.9	1.5	1.0	0.0	0.8	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
追捕 Pursue	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.7	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
叶层 Foliage layer	61.0	88.7	70.2	48.2	3.3	3.7	9.4	7.2	5.2	56.8	8.6	89.2	5.2	70.1	77.7
小枝 Sprig	22.6	10.2	26.3	31.0	2.3	4.2	2.1	1.7	1.3	37.9	33.7	10.3	5.5	29.2	22.3
粗枝 Asperata	16.4	1.1	3.5	5.5	0.0	1.8	0.0	0.0	0.0	5.3	11.2	0.5	39.1	0.7	0.0
树干 Trunk	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	3.3	0.0	27.7	0.0	0.0
地面 Ground	0.0	0.0	0.0	15.3	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	43.2	0.0	22.5	0.0	0.0
空中 Air	0.0	0.0	0.0	0.0	94.4	90.3	88.5	91.1	93.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
0−1.5m	0.0	0.0	0.0	11.2	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	63.2	5.7	23.6	10.1	18.6
1.6−4m	0.0	33.2	0.0	53.9	0.0	1.3	22.9	19.9	33.6	23.6	31.5	80.2	23.8	78.2	74.9
4.1−7m	5.1	10.2	8.7	26.1	4.7	5.1	40.7	49.4	54.5	30.8	5.3	14.1	21.3	11.7	6.5
7.1−10m	40.0	50.1	13.4	8.8	44.6	45.8	16.4	10.7	11.9	39.8	0.0	0.0	12.1	0.0	0.0
10.1−15m	36.0	2.3	40.1	0.0	38.4	34.9	8.0	7.0	0.0	5.8	0.0	0.0	8.2	0.0	0.0
>15 m	18.9	4.2	37.8	0.0	12.3	12.9	12.0	13.0	0.0	0.0	0.0	0.0	11.0	0.0	0.0

取食变量 Feeding variable	Sno	Mgu	Llu	Amo	Yca	Eza	Nbr	Pma	Psp	Msu	Sfr	Dco	Cju	Ach
拾取 Glean	86.0	95.7	98.9	97.8	98.7	99.3	97.8	100.0	96.3	98.1	51.2	92.1	90.0	89.6
探取 Probe	14.0	4.3	1.1	2.2	1.3	0.7	2.2	0.0	3.7	1.9	48.8	0.0	0.0	0.0
出击 Attack	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
飞取 Hover	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	7.9	10.0	10.4
追捕 Pursue	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
叶层 Foliage layer	0.0	90.9	96.5	98.0	66.8	70.0	0.0	76.0	43.2	91.1	0.0	89.9	97.0	95.2
小枝 Sprig	0.0	9.1	3.5	2.0	28.2	28.6	1.1	20.2	26.5	8.9	3.7	7.8	2.6	3.1
粗枝 Asperata	0.0	0.0	0.0	0.0	5.0	1.4	0.0	3.8	27.2	0.0	13.7	2.3	0.4	1.7
树干 Trunk	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	3.1	0.0	82.6	0.0	0.0	0.0
地面 Ground	100.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	98.9	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
空中 Air	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
0−1.5m	100.0	0.0	0.0	15.2	0.8	0.5	100.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
1.6−4m	0.0	34.7	32.1	68.1	7.1	12.8	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	5.5	8.6
4.1−7m	0.0	49.2	56.3	16.7	20.6	14.2	0.0	12.1	5.3	23.4	0.0	8.9	30.8	15.6
7.1−10m	0.0	10.7	11.6	0.0	35.9	34.8	0.0	31.5	38.9	57.8	43.8	20.1	47.1	26.2
10.1−15m	0.0	5.4	0.0	0.0	30.6	31.5	0.0	51.0	50.2	12.4	48.5	49.9	13.3	33.6
>15 m	0.0	0.0	0.0	0.0	5.0	6.2	0.0	5.4	5.6	6.4	7.7	21.1	3.3	16.0

动 物 学 研 究 2013，Dec. 34(6): 610−616 CN 53-1040/Q ISSN 0254-5853
Zoological Research DOI:10.11813/j.issn.0254-5853.2013.6.0610

ND-FISH 技术在两栖类中的应用

常晓嫒[1,2]，夏 云[1]，曾晓茂[1,*]

1. 中国科学院成都生物研究所，四川 成都 610041

2. 中国科学院大学，北京 100049

摘要：非变性荧光原位杂交（ND-FISH）是近年来兴起的一种技术，一般使用带有荧光标记的简单序列重复（SSRs）作为探针，杂交中不需要进行探针和染色体的变性使得检测简单快捷。SSRs 探针可检测出染色体上 SSR 富集的区域，可以帮助辨识染色体，SSRs 分布的多态性还可以为遗传多态性的研究提供信息。（1）该研究首次将 ND-FISH 运用于两栖动物中，得到了 5 个可运用于多态性研究的标记。（2）研究发现，有别于其他类群，当 ND-FISH 应用于两栖动物时，染色体标本必须进行变性。（3）该研究还对双色荧光原位杂交流程进行了较大的改进，在一个杂交体系中同时使用直接和间接标记探针，通过一次实验获得双色信号，从而使步骤简化。

关键词：ND-FISH；SSRs；标记筛选；双色 FISH

中图分类号：Q959.5; Q7; Q343 **文献标志码**：A **文章编号**：0254-5853-(2013)06-0610-07

Application of ND-FISH in amphibians

Xiao-Ai CHANG [1,2], Yun XIA [1], Xiao-Mao ZENG [1,*]

1. *Chengdu Institute of Biology Chinese Academy of Science*, *Chengdu* 610041, *China*
2. *University of Chinese Academy of Science*, *Beijing* 100049, *China*

Abstract: The recently popularized non-denaturing fluorescence *in situ* hybridization (ND-FISH) is a new technique that is both quick and efficient, in part because denaturing of both of the probes and the chromosomes is unnecessary. Synthetic simple sequence repeats (SSRs) labeled with fluorescein are used as probes to detect SSR-enriched chromosome regions and provide markers to identify the chromosomes. To date this method has not been applied to amphibians, even though the polymorphism of the distribution of SSRs may help to advance genetic polymorphism research. This paper also improved the double-colour FISH method by simultaneously using probes labelled with fluorescein and probes labelled with DIG to get double-color signals. This study found 5 SSRs markers that may be useful in the polymorphism research, and that the amphibian chromosomes must be denatured in ND-FISH.

Keywords: ND-FISH; SSRs; Marker selection; Double-colour FISH

遗传多态性一直是进化生物学研究的重要内容。而细胞遗传水平的多态性研究一般都使用C带、Ag带等带型技术和荧光原位杂交技术（fluorescence *in situ* hybridization，FISH）。相对于条带技术，FISH 可同时提供分子和细胞水平的信息，并提供了更高的精度和分辨率。根据探针及靶部位长度不同，FISH 的探针可分为 3 种类型：（1）多拷贝基因探针，如核糖体 RNA 基因、组蛋白基因探针等，这些探针属于功能基因，但在基因组上有较多的拷贝，所以仍然很容易得到杂交信号，如 18*S* rDNA，组蛋白基因等。（2）简单重复序列探针，如着丝粒、端粒序列探针，哺乳动物的 Alu 序列探针等，这类探针尽管其本身序列较短（如端粒序列探针只是 5 碱基或 6 碱基重复），然而由于在基因组中有极多拷贝，靶序列很长，所以杂交信号非常明亮，定位难度相对较低。（3）独特序列探针，指由大片段克隆（Fosmid、BAC 等）、染色体特异性文库、基因组 DNA 等制备的探针（Huan, 2009）。

收稿日期：2013-07-19；接受日期：2013-08-07

基金项目：国家自然科学基金（31272282）；中国科学院重要方向性项目（KSCX2–EW–J–22）

*通信作者 Corresponding author. E-mail: zengxm@cib.ac.cn

第一作者简介：常晓媛（1988–），女，硕士研究生，研究方向为细胞与分子进化。E-mail: changxa@cib.ac.cn

ND-FISH（non-denaturing FISH）是近几年兴起的一种技术，使用的探针与过去常规的几种探针不同，主要是微卫星序列，又称为简单序列重复（SSRs）。探针是合成的15~20 bp的单碱基、二碱基、三碱基或四碱基的微卫星序列。微卫星位点广泛分布于真核生物的基因组中（Hamada et al, 1982）。因重复数目的不同而呈现高度多态性（Amos et al, 1993）。目前几十到几百个碱基的微卫星序列由于其在个体间的多态性，作为分子标记广泛的应用于连锁图谱、基因标记、系统发育等多领域的研究。微卫星探针有着出乎意料的在非变性染色体上识别SSRs的能力，它们可以快速结合到SSR富集的染色体区域（Cuadrado & Jouve, 2010）。ND-FISH属于直接杂交法，15~20 bp的DNA探针上带有荧光基团，并且是合成的单链DNA，因而在荧光原位杂交中不需要对染色体和探针进行变性，也不需要添加抗体，这使得检测变得省时省力，简便高效。ND-FISH由于不需要对染色体进行变性，染色体的形态得到了很好的保持，这对于同一分裂相上的重复杂交有很大优势。另外ND-FISH合成的探针保证了荧光标记的质量。

在前人的研究中，SSRs探针在大麦、玉米、蝗虫、果蝇和人类中得到了明显的杂交信号，而且特异性很强(Cuadrado & Jouve, 2010)。在大麦*Hodeum vulgare*和*H.bulbosum*的研究中，SSRs探针为染色体的识别提供了标记，其中（ACT）$_5$ 的信号在*H.vulgare* 的7对同源染色体之间最具多态性，可以清晰的辨别所有染色体。(AAG）$_5$ 和（ACT）$_5$两个探针还为*H. vulgare* ssp. *spontaneum*中一个株系5号染色体与7号染色体相互易位提供了标记。前人在观察染色体形态和C带等经典细胞学研究后认为*H. bulbosum*是*H. vulgare*的近缘种，共享一套“H基因组”，而*Hordeum* 属其他物种则具备另三套“H基因组”（Carmona et al, 2012; Linde-Laursen et al, 1997）。但是（AG）$_{10}$、（AAG）$_5$、（ACT）$_5$和（ATC）$_5$的ND-FISH结果却显示*H. vulgare* 和*H. bulbosum* 染色体上SSRs的分布有着很大不同。这支持了另一种相反的假说，使得*H.vulgare* 和*H.bulbosum*的近缘关系仍然存在争议，也暗示着使用SSRs的ND-FISH可以为系统发育假说提供佐证（Carmona et al, 2012）。

在两栖动物中，独特序列探针的缺乏是很严重的问题。rDNA 等常用的探针提供的多态性信息很少，只能辨识个别染色体，这使得分析两栖动物细胞水平遗传多态性的研究十分困难。在对雨蛙科*Aplastodiscus* 属染色体进化的研究中，研究者使用了端粒作为分子标记，在 *A. perviridis* 和 *A. callipygius* 中，端粒探针杂交了所有染色体的端部，而在*A. leucopygius*的3号染色体的着丝粒区域发现了内端粒序列（ITS）。在 *A. arildae* 和 *A. eugenioi* 的杂交结果中，所有染色体的端粒和着丝粒都有信号（Gruber et al, 2012）。在棘腹蛙的荧光原位杂交的研究中，5S rDNA 探针的信号只出现在 1 号染色体上，端粒序列探针出现在了所有染色体端部，在极个别个体中检测到 ITS（Qing et al, 2013）。总之，这些常用探针在属下、种下呈现很低的多态性。

本研究尝试了 ND-FISH 在两栖类中的应用：（1）我们将常用的 SSRs 在两栖类中进行筛选，得到一系列在染色体间有多态性的标记，可用于两栖类染色体识别和遗传多态性等研究。(2）较之其他类群，ND-FISH 技术在两栖类中，染色体必须变性之后才可以得到杂交信号。(3）此外，本研究对双色杂交流程进行了较大的改进，尝试同时使用直接标记和间接标记的探针，避免了两次杂交所增加的洗脱及相关程序，直接获得双色信号，使杂交流程简化、提高效率。

1　材料和方法

1.1　有丝分裂染色体制备

选取来自于四川地区的棘腹蛙（*Quasipaa boulengeri*）个体制备染色体。棘腹蛙具有易位多态现象，分布区靠西的部分种群中检测到多种核型。Qing et al（2012）在研究中共发现了 5 种核型，因 1 号和 6 号两对染色体相互易位而成。Ⅰ型是常规核型，两对染色体均未发生重排，1 号和 6 号染色体分别为一对大的和一对小的中着丝粒染色体，可表示为 MM/mm。Ⅱ-V 型（MM/mSt、MT/mm、MT/mSt、MT/StSt）中，或 1 号、或 6 号，或 1 和 6 号染色体均有涉及到易位后形成的异形染色体。由于易位发生仅局限于该种分布区西端部分种群，该物种大多数个体仍为没有发生易位的 I 型核型。而本研究旨在技术的运用，故实验标本均采用没有发生易位的 I 型核型个体。

有丝分裂相采用骨髓细胞制备（Schmid et al, 2010）。制备好的染色体标本于室温干燥 2~4 天后，经 70%、90%、100%的酒精梯度脱水后，于 100%的酒精中–20 ℃保存。

1.2 SSRs和5S探针的合成

SSRs探针由上海英俊（invitrogen）合成，序列及修饰见表1。

5S探针带有DIG标记，由PCR法合成。5S正向引物5′-GCCTACGGCCACACCAC-3′，反向引物5′-AAGCCTACGACACCTGGTATTC-3′（Qing et al, 2012）。5S PCR扩增程序：94 ℃ 1 min，50 ℃ 30 s，72 ℃ 1 min，30个循环。得到的PCR产物经过GenElute™ PCR Clean-Up Kit（SIGMA）纯化，–20 ℃保存。

表1 ND-FISH使用的SSRs探针

Table 1 SSRs used as probes in ND-FISH experiments

探针 Probe	序列 Sequence	5′端修饰 Modifications in 5′
$(A)_{20}$	AAAAAAAAAAAAAAAAAAAA	TAMRA
$(C)_{20}$	CCCCCCCCCCCCCCCCCCCC	TAMRA
$(AC)_{10}$	ACACACACACACACACACAC	TAMRA
$(AG)_{10}$	AGAGAGAGAGAGAGAGAGAG	TAMRA
$(CT)_{10}$	CTCTCTCTCTCTCTCTCTCT	TAMRA
$(AT)_{10}$	ATATATATATATATATATAT	TAMRA
$(AAC)_{5}$	AACAACAACAACAAC	TAMRA
$(AAG)_{5}$	AAGAAGAAGAAGAAG	TAMRA
$(AAT)_{5}$	AATAATAATAATAAT	TAMRA
$(ACG)_{5}$	ACGACGACGACGACG	FITC
$(ACT)_{5}$	ACTACTACTACTACT	TAMRA
$(CAT)_{5}$	CATCATCATCATCAT	TAMRA
$(CCG)_{5}$	CCGCCGCCGCCGCCG	FITC
$(ACC)_{5}$	ACCACCACCACCACC	TAMRA
$(AGG)_{5}$	AGGAGGAGGAGGAGG	TAMRA
$(AGC)_{5}$	AGCAGCAGCAGCAGC	TAMRA
$(GACA)_{5}$	GACAGACAGACAGACAGACA	TAMRA
$(GATA)_{5}$	GATAGATAGATAGATAGATA	TAMRA
$(GACT)_{5}$	GACTGACTGACTGACTGACT	TAMRA
$(GCAT)_{5}$	GCATGCATGCATGCATGCAT	TAMRA
$(GAGT)_{5}$	GAGTGAGTGAGTGAGTGAGT	TAMRA

1.3 SSRs的ND-FISH

染色体标本从–20 ℃取出后镜检，55 ℃放2 h。0.01 mol/L HCl中配制0.01% pepsin，每张片子500 μL，盖盖玻片37 ℃处理15 min。洗去pepsin后于70%甲酰胺，10% 20×SSC中72 ℃变性2 min。将片子迅速放在预冷的70%、90%、100%梯度酒精中，各处理10 min。完成后扇动晾干。

2×SSC中配制杂交液40 μL：30% 去离子甲酰胺，10% 硫酸葡聚糖，0.3% SDS，SSR探针100 ng。杂交液滴在片子上，盖盖玻片。于37℃潮湿暗盒中杂交3 h。

将片子浸入室温的洗脱液（4×SSC, 0.2% Tween 20）中，待盖玻片自动脱落后涮洗10 min。再用洗脱液涮洗5 min。最后用ddH$_2$O涮洗几遍。甩干片子，加DAPI 30 μL，用配备对应滤镜组合的Leica DMRA2荧光显微镜对杂交信号进行检测，并通过Leica DFC490 CCD与Qwin V3和Qgo软件进行图像拍摄和采集。

1.4 SSRs与5S的双色荧光原位杂交

染色体标本的处理与SSRs的FISH相同。2×SSC中配制杂交液40 μL：40% 去离子甲酰胺，10% 硫酸葡聚糖，0.3% SDS，SSRs探针100 ng，5S探针50 ng。杂交液于83℃变性8 min后立即置于冰上，放置10 min。杂交液滴在片子上，盖盖玻片。于37 ℃潮湿暗盒中杂交6 h后,载玻片在2×SSC中浸泡2~3 min，摇落盖玻片后轻轻涮洗几下。每张片子上加200 μL抗体溶液（2 μL Dig-FITC, 198 μL 1% BSA），37 ℃孵育1 h后在洗脱液中涮洗3次，每次5 min。甩干片子，最后加DAPI 30 μL，镜检。

1.5 SSRs探针的重复实验与分析

$(AC)_{10}$、$(AG)_{10}$、$(AAC)_{5}$分别在5个个体中重复实验，$(CAT)_{5}$在14个个体中重复，$(GACA)_{5}$在3个个体中进行重复，选择好的分裂相拍摄并进行分析，得到每个探针在染色体上稳定出现的位置。

2 结 果

2.1 SSR探针筛选结果

采用单一探针杂交方法，将合成的21对探针分别对不同染色体标本进行杂交，检测得$(AC)_{10}$、$(AG)_{10}$、$(AAC)_{5}$、$(CAT)_{5}$、$(GACA)_{5}$等5个较为稳定的标记。

$(AC)_{10}$的杂交结果显示，信号稳定出现于2号、6号、13号染色体着丝粒附近，以及11号染色体的短臂上（图1A）；$(AG)_{10}$的信号主要位于1号染色体着丝粒，2号、6号染色体的着丝粒与端部，3号、5号染色体的端部，以及12号染色体短臂上（图1B）；$(AAC)_{5}$杂交信号主要位于1号染色体着丝粒与长臂上，3号染色体的端部，5号染色体短臂端部，以及6号染色体着丝粒处（图1C）；$(GACA)_{5}$的信号主要位于2号染色体的着丝粒附近（图1D）。$(CAT)_{5}$的信号位于1号染色体的长臂和短臂的近着丝粒处、2号染色体的着丝粒处，在部分个体中还出现在3号染色体长臂上（图2）。

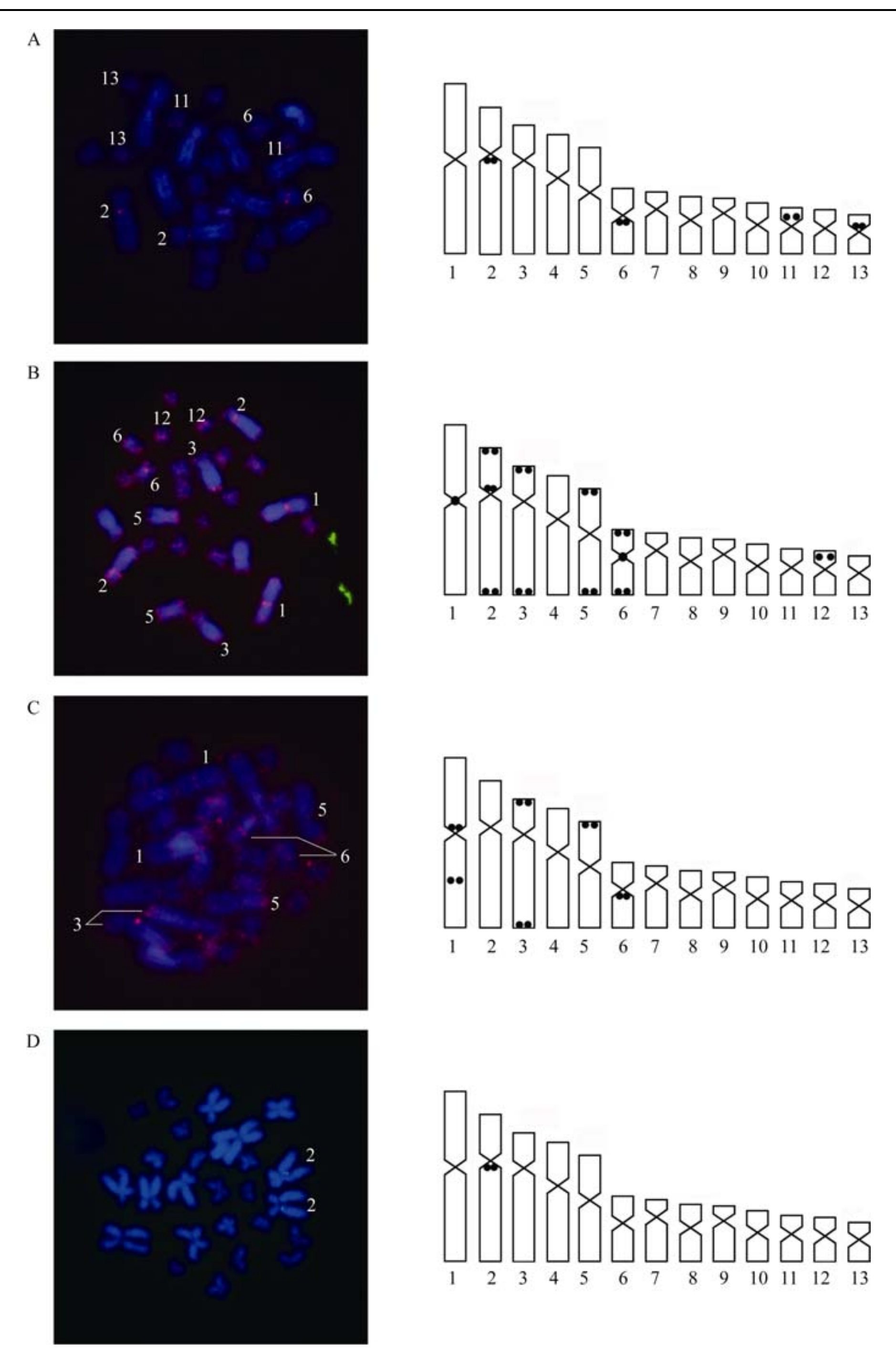


图 1　（AC）$_{10}$、（AG）$_{10}$、（AAC）$_5$、（GACA）$_5$杂交信号在棘腹蛙染色体上的分布

Figure 1　Chromosomal distribution of signals of（AC）$_{10}$,（AG）$_{10}$,（AAC）$_5$ and（GACA）$_5$ in metaphases of *Quasipaa boulengeri*

A：（AC）$_{10}$ 杂交信号呈红色，主要分布于于 2 号、6 号、13 号染色体着丝粒附近，以及 11 号染色体的短臂上；B：（AG）$_{10}$杂交信号呈红色，主要分布于 1 号染色体着丝粒，2 号、6 号染色体的着丝粒与端部，3 号、5 号染色体的端部，以及 12 号染色体短臂上；C：（AAC）$_5$杂交信号呈红色，主要分布于 1 号染色体着丝粒与长臂上，3 号染色体的端部，5 号染色体短臂端部，以及 6 号染色体着丝粒处；D：（GACA）$_5$的信号呈绿色，位于 2 号染色体的着丝粒附近。

A The (AC) $_{10}$ signals appear red and locate near the centromeric region of chromosome no.2, no. 6, no.13, and on the short arm of chromosome no. 11; B: The (AG) $_{10}$ signals appear red and locate near the centromeric region of chromosome no.1, no. 2 and no. 6, and on the telomeric position of chromosome no. 2, no. 3, no. 5, no. 6, and on the short arm of chromosome no. 12; C: The (AAC) $_5$ signals appear red and locate near the centromeric region of chromosome no.1, no. 6, and on the long arm of chromosome no. 1, and on the telomeric position of chromosome no. 3, and the telomeric position of short arm of chromosome no. 5; D: The (GACA) $_5$ signals appear green and locate near the centromeric region of chromosome no.2.

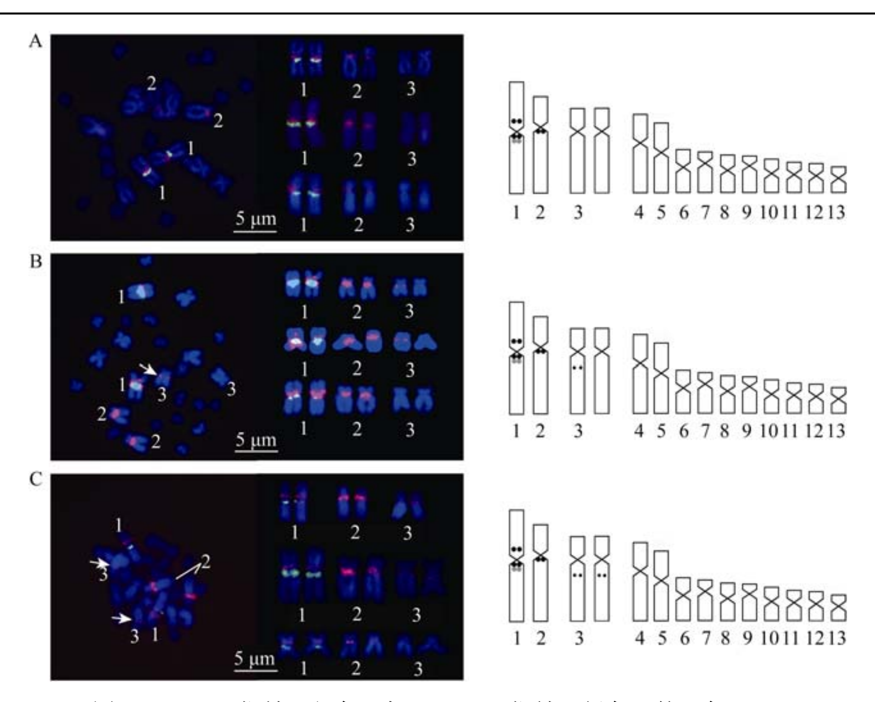


图 2（CAT）$_5$探针（红色）与 5S rDNA 探针（绿色）的双色 FISH

Figure 2　Double-color FISH with (CAT)$_5$ probe (red) and 5S rDNA probe (green)

（CAT）$_5$杂交信号位于 1 号染色体的长臂和短臂的近着丝粒处，2 号染色体的着丝粒处，在部分个体中还出现在 3 号染色体长臂上；5S rDNA 的信号位于 1 号染色体长臂近着丝粒处。A：3 号染色体上没有（CAT）$_5$信号的代表个体。B：（CAT）$_5$信号出现在一条 3 号染色体上，而同源染色体上没有的代表个体。C：两条 3 号染色体上都有（CAT）$_5$信号的代表个体。

The signals of locate on both short arm and long arm near the centromeric region of chromosome no. 1 and on the centromeric region of chromosome no. 2; The signals of 5S rDNA locate on the long arm of near the centromeric region of chromosome no. 1. A: The representative sample that has no signals on the chromosome no. 3. B: The representative sample that has signals on one chromosome no. 3 while the homologous chromosome has no signals. C: The representative sample that has signals on the chromosome no. 3.

2.2　双色杂交结果

同时使用直接标记与间接标记的探针，用（CAT）$_5$探针（红色）与5S rDNA探针（绿色）的双色FISH，得到理想的双色杂交效果。(CAT）$_5$ 的杂交结果显示，信号稳定出现于1号染色体的长臂和短臂的近着丝粒处、2号染色体的着丝粒处。在某些个体中，(CAT）$_5$的信号还出现在3号染色体的长臂上。有的个体一对3号染色体上都没有信号（图2A)，有的个体一条3号染色体上有信号而同源染色体上没有（图2B)，还有的个体一对3号染色体上都有信号（图2C)。5S的信号稳定出现于1号染色体长臂的近着丝粒处。

3　讨　论

3.1　筛选两栖类 SSRs 探针

以往在荧光原位杂交中使用的探针，无论是重复序列、多拷贝基因还是单拷贝序列提供的带型都很单一，一般都定位在一对同源染色体上，只能对一对同源染色体起辨识作用，例如 5S rDNA；或者是无差别的分布于所有染色体上，例如端粒序列。而 SSRs 由于在染色体上分布广泛，可提供多带型，一个标记或几个标记组合就可以辨别出很多对同源染色体，在 Carmona et al（2012）的研究中，(ACT）$_5$一个标记就可以辨别所有 7 对同源染色体。在鱼类性染色体的研究中，SSRs 探针也成功的标记了 W 染色体（de Bello Cioffi et al, 2012)。此外，不同的 SSRs 序列在不同的物种和类群中的富集性和多态性有所不同，在一个类群中得到清晰的多态性信号的标记在另一个类群中可能根本观测不到信号。例如在蟾鱼类（Batrachoididae family）的研究中，(GATA）$_n$探针在蟾鱼类的 4 个物种中都得到了大量强烈的信号（Úbeda-Manzanaro et al, 2010)，而在本研究中（GATA）$_n$探针与棘腹蛙染色体杂交却没有信号。

为了检测 SSRs 探针是否能在两栖类中运用，我们选择了棘腹蛙作为实验对象。参照已有研究类群的工作（Cuadrado & Jouve, 2010)，设计了 21 条 SSRs 探针进行尝试（表 1)。结果表明，SSRs 探针

可以在两栖类中有良好的运用效果。在棘腹蛙中，（AC）$_{10}$、（AG）$_{10}$、（AAC）$_5$、（CAT）$_5$、（GACA）$_5$ 等 5 个标记得到了染色体间明显差异的信号，这些标记在不同个体中较稳定出现，都能起到一定的辨识染色体的作用（图 1, 2），如果将不同的标记偶联上不同颜色的荧光，多个标记组合可以在一次实验中更准确的辨别更多的染色体。其他标记则没有信号或在每条染色体上分布相同，在棘腹蛙中不能起到染色体识别作用。

其中，（CAT）$_5$ 在一些个体 3 号染色体长臂长上出现信号，表现出多态性。有的个体的两条 3 号染色体上都没有出现（CAT）$_5$ 的杂交信号，有的个体一条 3 号染色体上有信号而同源染色体上没有，有的个体两条同源 3 号染色体上都有信号。根据长臂上是否有信号，可认为 3 号染色体有两种，一种或许是由另一种变化而来。发生变化新产生的 3 号染色体在种群中通过杂交扩散，产生了现在看到的情况，即不同个体中的 3 号染色体对表现出 3 种类型：一对 3 号染色体都没有信号的纯合子，一对 3 号染色体都有信号的纯合子，以及一条 3 号染色体有信号而另一条却没有的杂合子。3 号染色体所具备的多态性可应用于棘腹蛙种群关系的分析。

3.2 两栖类的 ND-FISH 染色体变性是必须条件

两栖动物染色体的高度螺旋化在很多带型研究中都有反映（Schmid, 1978a）。两栖动物每微米的染色体含有的 DNA 量要远远多于其他脊椎动物（如哺乳类、鸟类、爬行类）（Schmid, 1978b）。因此两栖类的染色体的明带和暗带间距很小，常常难以辨别（Schmid, 1978a, b）。例如前人对两栖类染色体的 R 带研究中就发现带型缺乏多样性（Schempp & Schmid, 1981）。染色体的高度螺旋化或许是 ND-FISH 在两栖动物中难以直接应用的原因。经验证 ND-FISH 中，SSRs 探针是与染色体上的 DNA 相杂交，而不是 RNA，也就是说 ND-FISH 的原理是依赖于 SSRs 探针对双链 DNA 的插入性（Carmona et al, 2012）。在染色体螺旋化程度很高的情况下，SSRs 探针很难接触到靶序列，入侵双链 DNA 并与之结合就更困难了。ND-FISH 中使用的探针为人工合成的单链 DNA，不需变性，但在两栖动物的应用中，需要添加对两栖类染色体标本变性的步骤，否则杂交难以成功。

ND-FISH 由于不需要对探针和染色体变性，使得实验操作方便快捷，虽然在两栖类的应用中发现染色体标本必须进行变性，然而由于 SSRs 探针的特性，杂交时间相比于常规 FISH 还是有了很大缩短，由 9~15 h 缩短到 3~4 h，工作效率可显著提高。

3.3 双色荧光原位杂交的改进

本研究尝试在一次杂交中同时使用直接标记探针与间接标记探针，通过这种方式，可更为快捷地获得双色信号的杂交结果。

荧光原位杂交技术使用的探针有两种。第一种是与荧光物直接偶联标记探针，即碱基与荧光素直接偶联的探针；第二种是和半抗原（如生物素、地高辛等）偶联的间接标记探针，探针的制备通常使用缺口平移、PCR、随机引物法等方法。使用的探针不同使得杂交实验中的步骤有很大区别。其中最重要的就是间接标记的探针在与染色体杂交之后还要与连有荧光素的抗体反应，之后还需要进行洗脱，而直接标记的探针则不需要。而且由于间接法中的抗原抗体反应有级联放大的作用，容易出现大量杂信号，洗脱条件一般较严格，而直接法的洗脱较温和。

之前也有学者同时使用 SSRs 和 rDNA 标记染色体，进行双色荧光原位杂交，其中 SSRs 序列的获得是使用（GATA）$_7$ 和（TATC）$_7$ 作为引物在无模板的情况下进行 PCR，然后再用缺口平移法标记探针（Úbeda-Manzanaro et al, 2010）。这种方法相比于直接合成单链探针要繁琐的多。

当我们试图使用带有荧光素标记的 SSRs 探针和 DIG 标记的 5S rDNA 探针一起标记染色体时，就遇到了直接标记和间接标记探针杂交后洗脱条件不同的问题。按照常规步骤，要想在同一个分裂相上看到两个标记的信号需要将片子上第一个标记洗脱，再将第二个标记重新杂交。而重新杂交会影响第二次杂交的效果，而且很费时费力。于是我们尝试一次完成两种探针的杂交。双色 FISH 中，在配制杂交液时我们将两种探针一起加入，按照双链 DNA 探针的要求提高去离子甲酰胺的浓度并进行变性，在探针与染色体杂交结束后不对多余探针进行洗脱，而是直接加抗体。抗体反应结束后则是按照前人 SSRs 探针杂交的经验（Cuadrado & Jouve, 2010），洗脱得较温和。我们在实验研究中发现探针的变性、杂交液配比的改变和地高辛的抗体反应对于 SSRs 的杂交结果几乎没有影响，而直接标记探针所使用的温和的洗脱虽然会增加一些 5S rDNA

的杂信号，但主信号也更明显了，拍摄调整曝光就可以得到很好的结果。

致谢：感谢电子科技大学杨足君教授、四川大学王亚军教授、武汉大学刘江东教授、湖北中医药大学赵刚教授提供的文献和指导，感谢四川大学彭锐、中国科学院成都生物研究所卿立燕的建议和帮助。

参考文献：

Amos B, Schlotterer C, Tautz D. 1993. Social Structure of pilot whales revealed by analytical DNA profiling. *Science,* **260**(5108):670-672.

Carmona A, Friero E, de Bustos A, Jouve N, Cuadrado Á. 2012. Cytogenetic diversity of SSR motifs within and between *Hordeum* species carrying the H genome: *H. vulgare* L. and *H. bulbosum* L. *Theoretical and Applied Genetics,* 2013, **126**(4):949-961.

Cuadrado Á, Jouve N. 2010. Chromosomal detection of simple sequence repeats(SSRs） using nondenaturing FISH(ND-FISH). *Chromosoma,* **119**(5):495-503.

de Bello Cioffi M, Kejnovský E, Marquioni V, Poltronieri J, Molina WF, Diniz D, Bertollo LAC. 2012. The key role of repeated DNAs in sex chromosome evolution in two fish species with ZW sex chromosome system. *Molecular Cytogenetics,* **5**(1):28.

Gruber SL, Zina J, Narimatsu H, Haddad CFB, Kasahara S. 2012. Comparative karyotype analysis and chromosome evolution in the genus *Aplastodiscus*(Cophomantini, Hylinae, Hylidae). *BMC Genetics,* 13: 28.

Hamada H, Petrino MG, Kakunaga T. 1982. A novel repeated element with Z-DNA-forming potential is widely found in evolutionarily diverse eukaryotic genomes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America,* **79**(21):6465-6469.

Huan P. 2009. Application of Fluorescence *in situ* Hybridization(FISH）in Chinese Shrimp, *Fenneropenaeus chinensis* and Zhikong Scallop, *Chlamys farreri*: Gene Mapping and Map Integration. Doctor thesis, Institute of Oceanography, Chinese Academy of Sciences. University of Chinese Academy of Sciences. 128.[郇聘. 2009. 利用荧光原位杂交技术(FISH）对中国明对虾和栉孔扇贝若干重要基因定位的研究. 博士论文，中国科学院海洋研究所. 中国科学院研究生院. 128.]

Linde-Laursen I, Heslop-Harrison JS, Shepherd KW, Taketa S. 1997. The barley genome and its relationship with the wheat genomes. A survey with an internationally agreed recommendation for barley chromosome nomenclature. *Hereditas,* **126**(1):1-16.

Qing LY, Xia Y, Zheng YC, Zeng XM. 2012. A *de novo* case of floating chromosomal polymorphisms by translocation in *Quasipaa boulengeri(*Anura, Dicroglossidae). *PLoS ONE,* **7**(10):e46163.

Qing LY, Xia Y, Zheng YC, Zeng XM. 2013. FISH of 5S rDNA and telomeric(TTAGGG）$_n$ repeats in normal and translocated populations of the frog *Quasipaa boulengeri*(Anura, Ranidae). *Chinese Science Bulletin,* **58**(18):2168-2173.

Schempp W, Schmid M. 1981. Chromosome Banding in Amphibia. VI. BrdU-replication patterns in Anura and demonstration of XX/XY sex chromosomes in *Rana esculenta. Chromosoma,* **83**(5):697-710.

Schmid M. 1978a. Chromosome banding in Amphibia. I. Constitutive heterochromatin and nucleolus regions in *Bufo* and *Hyla*. *Chromosoma,* **66**(4):361-388.

Schmid M. 1978b. Chromosome banding in Amphibia. II. Constitutive heterochromatin and nucleolus regions in Ranidae, Microhylidae and Rhacophoridae. *Chromosoma*, **68**(2):131-148.

Schmid M, Steinlein C, Bogart JP, Feichtinger W, León P, La Marca E, Diaz LM, Sanz A, Chen SH, Hedges SB. 2010. The Chromosomes of terraranan frogs. Insights into vertebrate cytogenetics. *Cytogenetic and Genome Research,* **130-131**(1-8):1-568.

Úbeda-Manzanaro M, Merlo MA, Palazón JL, Cross I, Sarasquete C, Rebordinos L. 2010. Chromosomal mapping of the major and minor ribosomal genes,(GATA)n and U2 snRNA gene by double-colour FISH in species of the Batrachoididae family. *Genetica,* **138**(7):787-794.

动 物 学 研 究 2013，Dec. 34(6): 617−625 CN 53-1040/Q ISSN 0254-5853
Zoological Research DOI:10.11813/j.issn.0254-5853.2013.6.0617

软鳍新光唇鱼（*Neolissochilus benasi*）的人工繁殖与胚胎发育

潘晓赋[1,#]，刘 倩[1,#]，王晓爱[1,2]，杨君兴[1,*]，陈小勇[1,*]，李再云[1]，李 列[3]

1. 中国科学院昆明动物研究所 遗传资源与进化国家重点实验室，云南 昆明 650223

2. 中国科学院大学，北京 1000493

3. 西畴县经济商务局，云南 西畴 663500

摘要：2009—2011 年，使用促黄体素释放激素类似物（LHRH-A_2）及马来酸地欧酮（DOM）混合催产剂共催产软鳍新光唇鱼（*Neolissochilus benasi*）雌鱼 60 尾及雄鱼 100 尾，其中，雌鱼成功 47 尾（78.3%），雄鱼成功 92 尾（92.0%）。雌鱼产卵量为 1 986~5 854 粒/尾，卵径为 2.2~2.8 mm，平均核偏位率为 73.2%。精子密度为（16.32±2.89）×10^9 个/ml，鲜精平均活力为（60.6±3.2）%，平均寿命为（70.2±5.3）s。胚胎发育过程需 120 h，分为受精卵期、分裂期、囊胚期、原肠胚期、体节期和孵化期等 6 个阶段，平均孵化率为 32.4%，45 日龄仔鱼存活率为 86.5%。胚胎发育过程中，畸形部位主要为口部、胸腔、脊索和眼部，且以脊索畸形较为常见，卵黄囊吸收异常及双头亦为畸形表现形式。在上述数据的基础上，分析了软鳍新光唇鱼畸形的原因，并提出在亲鱼培育过程中应尽量提供适合的养殖条件，最大限度降低捕获诱发的压力，以提高繁殖效率。

关键词：软鳍新光唇鱼，人工繁殖，胚胎发育
中图分类号：Q959.46$^+$8 **文献标志码**：A **文章编号**：0254-5853-(2013)06-0617-09

Artificial propagation and embryonic development of *Neolissochilus benasi*

Xiao-Fu PAN[1,#], Qian LIU[1,#], Xiao-Ai WANG[1,2], Jun-Xing YANG[1,*], Xiao-Yong CHEN[1,*], Zai-Yun LI[1], Lie LI[3]

1. *State Key Laboratory of Genetic Resources and Evolution, Kunming Institute of Zoology, Chinese Academy of Sciences, Kunming,* 650223 *China*

2. *University of the Chinese Academy of Sciences, Beijing* 100049, *China*

3. *Economic and Commercial Bureau of Xichou County, Xichou* 663500, *China*

Abstract: From 2009 to 2011, luteinizing hormone releasing hormone analogue (LHRH-A_2) mixed with domperidon (DOM) was successfully applied during the artificial propagation of *Neolissochilus benasi*. Totally, 60 females and 100 males were injected with the hormone mixture, resulting in 47 (78.3%) females and 92 (92.0%) males being successfully spawned. A total of 1,986−5 854 eggs were spawned per female with an egg diameter varying between 2.2−2.8 mm, and an average nucleus deviation rate of 73.2%. Sperm density, vitality and life span were 16.32±2.89×10^9/mL, 60.6±3.2 % and 70.2±5.3 s, respectively. On the whole, the embryonic development of *N. benasi* was similar to that of zebra fish—albeit relatively slower—lasting approximately 120 hours. The development itself can be divided into six discrete stages: zygote, cleavage, blastula, gastrula, segmentation and hatching. Results showed that the average hatching rate was 32.4%, with 86.5% of larvae surviving 45 days after hatching. During embryonic development, deformities commonly occurred on the mouth, chest, ocular region, especially in the spinal column. To try to attempt improving future breeding efforts, we provided a survey of the embryonic developmental difficulties of *N. benasi* using LHRH-A_2 followed by several potential solutions, including providing suitable breeding conditions and minimizing capture stresses.

Keywords: *Neolissochilus benasi*; Artificial Propagation; Embryonic Development

胚胎和仔鱼畸形是水产业最为严重的问题之一,制定鱼类精卵质量评价体系,降低胚胎发育及仔稚鱼外部畸形是以放流为目的的鱼苗生产质量控制和研究的重要环节（Vay et al,2007；Yang et al,

收稿日期：2013-02-28；接受日期：2013-05-12
基金项目：云南大唐国际李仙江流域水电开发有限公司委托项目；国家电力云南阿墨江发电有限公司委托项目
*通信作者（Corresponding authors），E-mail：yangjx@mail.kiz.ac.cn；chenxy@mail.kiz.ac.cn
#共同第一作者（Authors contributed equally to the work）

2013）。在传统渔业生产中，仔稚鱼质量关乎水产品数量和质量，在长期实践中虽已发展出了众多提高其质量的技术，但效果不佳，畸形率仍居高不下，影响其放流后生存能力（Tsukamoto et al, 1997）。造成畸形的原因很多，如环境（温度、光照和盐度等）、营养和遗传等因素（Bolla & Holmefjord, 1988; Haddy & Pankhurst, 2000）。由于鱼卵孵化效果直接影响仔稚鱼畸形率，且鱼卵人工孵化需花费大量人力物力，因此，客观评价鱼卵质量并淘汰低质量鱼卵在水产苗种生产实践中十分重要。鱼类胚胎发育可用于衡量亲鱼培育效果及评价仔稚鱼质量，且能为其他野生近缘种鱼类的快速人工扩繁提供技术参考。

软鳍新光唇鱼（*Neolissochilus benasi*），隶属鲤科（Cyprinidae）鲃亚科（Barbinae）新光唇鱼属（*Neolissochilus*）。历史上，软鳍新光唇鱼是元江流域渔民的主要捕获对象，主要分布于云南的河口、江城、西畴及元江等地，境外分布于越南（Chu & Chen, 1989）。近年，由于捕捞强度大、梯级电站开发和保护意识薄弱等原因（Yang et al, 2010），软鳍新光唇鱼种群衰退严重，其种群在李仙江流域已属偶见，目前，仅在云南文山州西畴县保存有较大种群（Yang et al, 2011）。有关软鳍新光唇鱼的研究主要集中在其分类地位（Chen & Yang, 2003）和精子超低温冷冻（Wang et al, 2012），在人工繁殖、胚胎发育和仔鱼畸形等方面尚未有提及。本研究在软鳍新光唇鱼人工繁殖成功的基础上，观察和描述其胚胎发育过程，为后续器官系统发生和毒理学研究奠定基础。

1 材料与方法

1.1 亲鱼来源与日常管理

2007 年 3 月—5 月，由云南省江城县曲水镇引种软鳍新光唇鱼 126 尾，饲养于中国科学院昆明动物研究所珍稀鱼类保育研究基地（海拔：2 008 m; N25°02′37.2″，E102°55′24.3″）。2008 年 3 月—2009 年 12 月，由云南省江城县曲水镇再次引种软鳍新光唇鱼 495 尾，饲养于江城县附近鱼池（海拔 1 134 m, N22°35′18.6″, E101°50′57.9″），并于 2010 年 5 月运回中国科学院昆明动物研究所珍稀鱼类保育研究基地，共存活 459 尾。2008 年 12 月—2009 年 5 月，由云南省西畴县鸡街镇引种软鳍新光唇鱼 2 126 尾，饲养于西畴县珍稀鱼类养殖基地（海拔 1 091 m, N23°29′21.9″, E104°40′28.3″）。

养殖池塘面积为 100~200 m^2、水深为 1.0~1.5 m, 水温为 16~25℃，养殖密度<3 kg/m^3，雌雄比为 1:1.5。每年 10 月—翌年 3 月光周期为光照:黑暗为 10 h:14 h，每年 3 月—9 月光周期为光照:黑暗为 12 h：12 h。每隔 3 d 注入一次新水，每次增加池水 15~20 cm。仔稚鱼孵出后 8~25 d 饵料为蛋黄浆和虾浆等，每日投喂 4 次，具体投喂量为每千尾用蛋黄一个，鲜虾 50 g 研磨成浆全池泼洒。25 d 以后投喂轮虫，其后，饵料主要以 111 鲤种鱼饲料和蛋白含量为 40%的粉状饲料为主，辅以活饵、添加矿物质和维生素等，上、下午各投喂一次，日粮为亲鱼体重的~3%，每次投喂量以在 15~30 min 内吃完为度。繁殖前 1 个月营造流水环境，促进亲鱼[体长（182.5±28.1）mm，体重（95.51±20.1）g]性腺成熟。

1.2 人工繁殖

参照鲤（*Cyprinus carpio*）人工繁殖方法（Horváth et al, 2002），0.9%生理盐水稀释混合催产素[促黄体素释放激素 A_2（LHRH-A_2，宁波第二激素厂）2.0 μg/kg 及马来酸地欧酮（DOM，宁波第二激素厂）1.0 mg/kg]，肌肉注射，雄鱼注射剂量减半。注射~24 h 施行干法人工授精，然后，鱼卵及时用霉菌净（重庆富尔家动物药业有限公司）消毒 15 min, 孵化水温控制在 20 ℃。人工授精前，光学解剖镜（Zeiss Stemi 2000-C, Germany）/显微镜（Olympus CX21）下观察卵子/精子情况。

1.3 胚胎发育观察

解剖镜下，精卵结合—原肠胚早期，每 15 min 观察一次；原肠胚早期—8 体节期，每 30 min 观察一次; 8 体节期—27 体节期，每 1 h 观察一次; 27 体节期—鱼苗孵化，每 2 h 观察一次；鱼苗孵化后，每 12 h 观察一次（Zhang & Zhao, 2000; Xing et al, 2011）。每次观察取样 15 粒，发育时间以＞50%受精卵到达该期的时间为准。同时，数码相机（Nikon Coolpix 955, Japan）拍摄发育时相，胚胎发育时相及名称依据 Ma et al（2008）。

1.4 数据收集

核偏位率（nucleus deviation rate, ND）为鱼卵放置于 10%醋酸溶液后，发生核偏离的鱼卵数量占所测鱼卵总数的百分比（Pan et al, 2011）。胚胎存活率（rate of embryo survival）为胚胎发育到某一发育时相时存活的胚胎数量与所观察胚胎总量的比值。孵化率（hatching success）为出膜仔鱼数量与受精卵总量的比值。生存率（survival success）为仔鱼出膜时的存活率，即出膜仔鱼数量与鱼卵总量的比值（Yin,

1995）。胚胎畸形率（rate of embryonic malformations）为鱼卵从受精到出膜间所产生的畸形胚胎数量与受精卵总量的比值，另外，详细记录畸形存在部位（如口、脊椎、胸腔及眼部等）及其他表现形式（如卵黄囊吸收异常及双头等），统计其数量并计算其占畸形胚胎总量的百分比。

1.5 数据处理

数据均以mean±*SD*表示，单因素方差分析和回归分析处理数据，所有数据处理在SigmaPlot10.0中进行，显著性水平为 P<0.05。

2 结　果

2.1 卵子和精子特性

软鳍新光唇鱼产卵量为 1 986~5 854 粒/尾，卵径为 2.2~2.8 mm，卵膜透明，卵黄球较大，呈橙黄色。受精卵遇水卵膜逐渐膨胀，卵径可达2.5~3.2 mm，为半浮性卵，无粘性，卵粒比重大于水，在静水中沉底发育，但在流水中可以漂浮不沉底。

软鳍新光唇鱼精子密度为（16.32±2.89）×10^9个/mL，鲜精平均活力为（60.6±3.2）%，平均寿命为（70.2±5.3）s。正常情况下，精液为乳白色，精子密度越大，乳白色愈浓，密度越小，颜色越淡。

2.2 人工繁殖情况

共催产 60 尾雌鱼和 100 尾雄鱼，其中，雌鱼成功 47 尾（78.3%），雄鱼成功 92 尾（92.0%）。平均核偏位率为73.2%，平均孵化率为32.4%，共孵化仔鱼 4.35 万尾。各批次的催产、产卵及各时期胚胎存活率见表 1。

表 1　2009—2011 年软鳍新光唇鱼人工繁殖结果

Table 1　Artificial propagation of *Neolissochilus benasi* from 2009 to 2011

项　目 Items	昆明 Kunming			西畴 Xichou		
	2009	2010	2011	2009	2010	2011
繁殖数量 Number of brook stocks	1♀3♂	4♀10♂	5♀10♂	5♀8♂	15♀29♂	30♀40♂
卵数（万粒）Number of eggs	0	0.2446	0.3579	1.2987	4.1450	12.3264
平均卵径 Egg size（mm）	0	2.15	2.45	2.06	2.21	2.31
核偏位率 Nucleus deviation rate（%）	0	69.5	89.4	46.2	53.8	82.1
胚胎存活率 Rate of embryo survival（%）						
囊胚期 Blastula period	0	70.6	91.2	62.8	68.4	88.2
原肠胚早期 Early gastrula period	0	66.5	87.3	58.2	61.8	73.5
原肠胚末期 Late gastrula period	0	50.4	79.9	52.3	49.7	63.4
体节期 Early segmentation period	0	33.8	45.2	25.7	30.1	42.3
孵化期 Hatching period	0	26.1	39.5	22.3	26.6	37.9
孵化率 Hatching success（%）	0	24.6	38.4	19.0	22.8	35.3
生存率 Survival success（%）	0	17.1	34.3	8.7	12.3	29.0
出膜时仔鱼畸形率 Rate of malformation during hatching（%）	0	40.2	32.1	2.4	7.4	8.7

2.3 胚胎发育

水温 20 ℃条件下，软鳍新光唇鱼鱼卵从受精到鱼苗孵出需~120 h（表 2），胚胎发育过程分为受精卵时期、分裂期、囊胚期、原肠胚期、体节期和孵化期等 6 个时期。

2.3.1 受精卵期

受精后~30 min，原生质向动物极集中，动物极顶端颜色逐渐变浅，在卵黄上方形成明显突起，即胚盘，胚盘不透明，占胚胎的很小比例 （图 1A）。

2.3.2 分裂期

软鳍新光唇鱼卵子的卵裂属盘状卵裂或不完全卵裂，仅在胚盘上进行。受精后 1 h，胚盘出现第 1 次分裂，为经裂，在胚盘顶部中央出现一纵沟，把胚盘分裂成两个均等的细胞（图 1B）；受精后90 min，进行第 2 次分裂，新分裂沟与第 1 次分裂沟垂直，为纵裂，形成四个大小、形态相似的细胞（图 1C）；受精后 2 h，进行第 3 次分裂，在第 1 次分裂面的两侧各出现一条与之平行、而与第 2 次分裂沟相垂直的分裂沟，最后形成 8 个等大的细胞，规则而对称地排成两排(图 1D)；受精后 2 h 30 min，发生第 4 次分裂，在平行于第 2 次分裂面的两侧各出现一条分裂沟，形成 4 排、每排 4 个，共 16 个细胞，原生质网密集（图 1E）；受精后 3 h，开始第 5 次分裂，这次分裂完成后形成 4 排、每排八个，共 32 个细胞，

细胞出现差异, 边缘细胞略大, 分裂球最大宽度和卵黄直径比较接近; 受精后3 h 30 min, 发生第6次分裂, 形成64个细胞（图1F）, 从此, 分裂球越分越小, 细胞数量越来越多, 细胞团呈方形隆起。

2.3.3 囊胚期

卵裂继续进行, 细胞愈分愈小, 数目不断增加, 受精后4 h, 形成128个细胞; 受精后4 h 50 min, 形成256个细胞（图1H）; 受精后5 h 40 min, 形成512个细胞, 此时, 分裂失去同步性, 中央囊胚外移; 受精后6 h 30 min, 卵黄合胞体层形成（图1I）; 受精后7 h 20 min, 胚盘处细胞团高高隆起, 呈高帽状, 进入囊胚早期（图1J）; 受精后8 h 10 min, 进入囊胚中期, 胚细胞团高度有所下降; 受精后9 h, 囊胚晚期开始, 胚细胞团进一步下降, 囊胚变低变薄。整个囊胚期持续时间为~7 h 5 min。

2.3.4 原肠胚期

受精后12 h 5 min, 进入原肠早期（图1K）, 囊胚细胞继续下包, 且由于分裂球的下包、内卷运动而在胚盘边缘形成胚环(图1L); 受精后12 h 35 min, 进入原肠中期, 卵黄 50%被胚盘外包, 可见胚盾雏形; 受精后15 h 15 min, 分裂球细胞下包达卵黄体的3/4, 胚盾继续延伸, 进入原肠末期（图1M）; 受精后19 h, 背缘前端加厚膨大成为脑泡原基, 背唇、腹唇明显（图1N）。整个原肠期持续时间为~6 h 55 min。

2.3.5 体节期

受精后19 h 30 min, 胚胎发育进入体节期, 胚盾逐渐增厚（图1O）, 形成神经板雏形, 胚盘继续下包＞5/6 的卵黄, 形成卵黄栓（图 1P）。受精后 21 h 15 min, 胚孔封闭（图1Q）; 受精后21 h 30 min, 胚体中部出现五对肌节（图1R）; 受精后22 h 30 min,

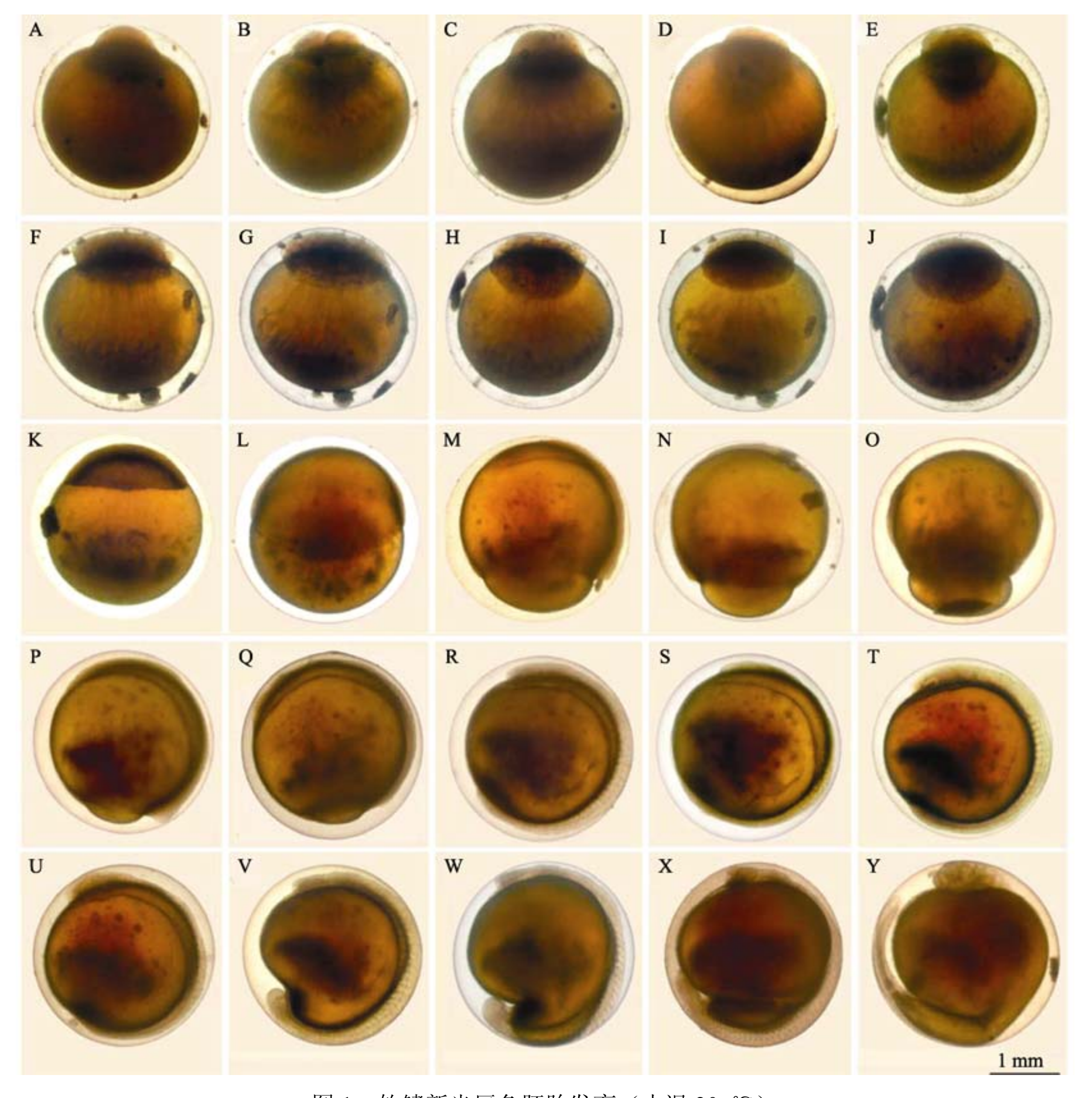


图1 软鳍新光唇鱼胚胎发育（水温20 ℃）

Figure 1 Embryonic development of *Neolissochilus benasi* at 20 ℃

胚体中部出现六对肌节，胚体头部两侧形成椭圆形眼囊（图 1S）；受精后 27 h 30 min, 16 体节构成的身体呈肩章形（图 1T）；受精后 29 h，胚体开始出现肌肉效应，此时肌肉收缩微弱且无规则节律（图 1U）。胚体尾部随时间推移而不断伸长（图 1V），心脏位于头下后方，受精后 42 h，心脏开始搏动，初时搏动微弱无力，逐渐变得强而有力（图 1W）。

2.3.6 孵化期

受精后 120 h，仔鱼开始孵出，孵出前胚体在卵膜内环绕超过一圈，出膜前胚体扭动加剧，尾部加速摆动，最终将卵膜顶破，胚体脱膜而出（图 1X）。初孵仔鱼身体稍弯曲，数分钟后伸直（图 2）。

软鳍新光唇鱼初孵仔鱼全长~6.5 mm，出膜后 5~10 h，仔鱼全身透明，眼睛尚无色素，血液呈淡黄色，尾部逐渐伸直，但卵黄囊大，游泳能力弱，一般静卧水底，做垂直游动（图 3）。



图 2　软鳍新光唇鱼初孵仔鱼

Figure 2　Newly hatched larvae of *Neolissochilus benasi*

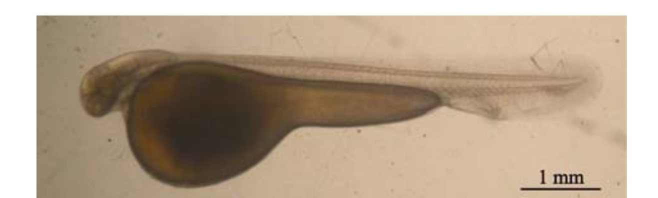


图 3　软鳍新光唇鱼仔鱼（出膜后 5~10 h）

Figure 3　Larvae of *Neolissochilus benasi*, 5 to 10 hours after hatching

2.4 仔鱼畸形

胚胎发育过程中，畸形出现的部位主要有口部、胸腔、脊索及眼部等，另外，卵黄囊吸收异常和双头也是畸形的表现形式（图 4）。其中，脊索畸形较为常见（92.3%），其次分别为胸腔增大（78.1%）、口部畸形（35.4%）、眼部畸形（18.5%）及双头（0.1%）。脊索畸形主要出现在体节期，胚体并没有像正常胚胎发育一样伸长，卵黄囊的形状不能与胚胎的伸直相适应而始终维持椭圆形结构，出膜后才继续完成胚胎拉长和尾部发育，造成胚胎脊索弯曲畸形。脊索畸形均伴随着胸腔增大，在胚胎出现肌肉效应后，胚体肌细胞的收缩和舒张一般为无规律颤抖，而后并不形成心脏原基，无心脏搏动。

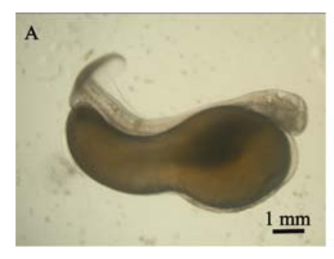
2.5 仔鱼生长

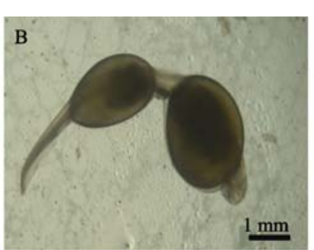
刚出膜的软鳍新光唇鱼仔鱼全长、脊索长和口—肛门长分别为（6.51±0.12）mm、（6.37±0.10）mm 和（5.26±0.09）mm（表 2），混合营养期为 5~7 d。出膜后第 10 d，鱼苗的卵黄囊全部吸收完，仔鱼开始开口摄食，能够自由游动。经过 15 d 的生长，仔鱼全长、脊索长和口—肛门长分别为（13.35±0.44）mm、（12.71±0.39）mm 和（9.79±0.41）mm。45 日龄仔鱼平均存活率为 86.5%。孵化后 40~55 d，仔鱼开始出现鳞片，进入稚鱼期。

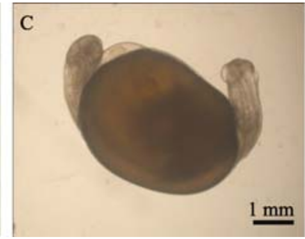
3 分析与讨论

3.1 亲鱼培育与鱼卵质量的关系

亲鱼培育技术是在了解培育亲鱼性腺发育特点、繁殖习性和影响产卵繁殖的生态环境因素的基础上建立的。但是，目前尚无法完全模仿多种鱼类的繁殖季节生态环境。为确保软鳍新光唇鱼繁殖成功，除池塘环境、水质、空间和温度等因素外，养殖环境下鱼卵质量的影响因子更能引起人们的广







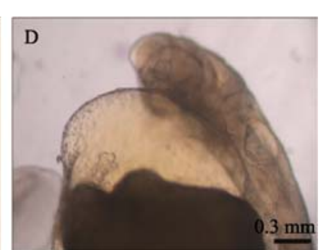


图 4　软鳍新光唇鱼仔鱼的畸形形式

Figure 4　Deformity models in larvae of *Neolissochilus benasi*

A：脊椎畸形; B：卵黄囊异常; C：双头; D：胸腔增大。

A：deformities of spinal column; B：yolk-sac resorption abnormalities; C：occurrence of conjoined twins; D：chest deformities.

表 2 软鳍新光唇鱼各发育阶段（水温 20 ℃）

Table 2 Development stages of *Neolissochilus benasi* at 20 ℃

阶段名称 Stages	时间 Time (h)	特征 Characteristics	图片编号 Figure
受精卵时期 Zygote period			
1 细胞期 1 cell	0：00	卵黄质开始隔离，胚盘隆起	图 1A
分裂期 Cleavage period			
2 细胞期 2 cell	1：00	第 1 次经裂	图 1B
4 细胞期 4 cell	1：30	第 2 次分裂，纵裂	图 1C
8 细胞期 8 cell	2：00	细胞规则而对称的排成两排	图 1D
16 细胞期 16 cell	2：30	细胞呈 4 排，每排 4 细胞	图 1E
32 细胞期 32 cell	3：00	细胞呈 4 排，每排 8 细胞	
64 细胞期 64 cell	3：30	第 6 次分裂	图 1F
囊胚期 Blastula period			
128 细胞期 128 cell	4：00	第 7 次分裂	
256 细胞期 256 cell	4：50	第 8 次分裂	图 1H
512 细胞期 512 cell	5：40	分裂失去同步性 中央囊胚外转	图 1I
1 000 细胞期 1 000 cell	6：30	卵黄合胞体层形成	图 1J
原肠胚期 Gastrula period			
原肠早期 Early gastrula	12：05	胚环形成	图 1K
原肠中期 Mid- gastrula	12：35	50%被胚盘外包胚盾形成	图 1L
原肠末期 Late gastrula	15：15	75%被胚盘外包	图 1M
体节期 Segmentation period			
2 体节 2 somite	19：30	脑原基加厚深入神经突（neural keel）	图 1O
5 体节 5 somite	21：30		图 1R
6 体节 6 somite	22：30	眼原基出现	图 1S
16 体节 16 somite	27：30	身体呈肩章形	图 1T
18 体节 18 somite	29：00	出现肌肉效应，胚体开始抽动	图 1U
22 体节 22 somite	32：50	卵黄扩张，尾加长	图 1V
27 体节 27 somite	36：20	耳石出现	
31 体节 31 somite	42：00	嗅觉板增厚，心脏缓慢搏动	
34 体节 34 somite	44：00	大脑形成，卵黄扩增与卵黄球径相等	
44 体节 44 somite	54：00	心脏搏动强而有力	图 1W
孵化期 Hatching period			
视网膜色素沉积期 Retinal pigmentation	70：00	早期视网膜色素沉积，开始对触摸产生反应	
胸鳍芽突出期 Pectoral fin bud	82：00	视网膜，胸鳍萌芽色素沉积	图 1X
胸鳍芽生长期 Pectoral fin growth	98：00	胸鳍芽增长	
胸鳍形成期 Pectoral fin formation	108：00	口张开，胸鳍、咽喉齿形成	
口部形成期 Formation of mouth	120：00	口部形成	
早期幼鱼 Early larva period	7~10 d	色素沉积，开始进食	

泛关注（Pan et al, 2009），但雄鱼精液品质检测则鲜见报道（Wang et al, 2012）。软鳍新光唇鱼精液监测发现，雄性个体鲜精平均活力为（60.62±3.21）%，低于鲤（*Cyprinus carpio*）、鲢（*Hypophthalmichthys molitrix*）和草鱼（*Ctenopharyngodon idellus*）等（Chen et al, 1992）。但是，若使用鲜精实施人工授精，原肠胚早期胚胎存活率均＞50%，因此，鲜精活力并不一定会影响鱼卵受精率。由于繁殖所用鱼类均采自野外，虽然经过短暂池塘饲养，初步建立亲鱼培育技术体系，但仍然有许多技术细节需要完善。在滇池金线鲃（*Sinocyclocheilus grahami*）和抚仙金线鲃（*Sinocyclocheilus tingi*）亲鱼培育实践中也发现了类似问题，而尽量提供适合的养殖条件，最大限度低捕获诱发的压力，可以显

表 3　软鳍新光唇鱼孵化期和胚后发育各阶段仔鱼测量

Table 3　Average measurements (mm) of hatchlings and post-larvae of *Neolissochilus benasi* at various stages of development

测量参数（mm） Measurement parameters	出膜 At hatchling	出膜 6−8 h At 6−8 h old	孵化后天数 Days after hatching						
			1	2	3	4	5	10	15
全长 Total length	6.51±0.12	6.73±0.10	7.41±0.15	7.94±0.22	8.37±0.18	8.85±0.32	9.55±0.28	11.47±0.27	13.35±0.44
脊索长 Length up to tip of the notochord	6.37±0.10	6.56±0.14	6.99±0.13	7.52±0.16	7.91±0.23	8.39±0.25	8.97±0.21	10.52±0.26	12.71±0.39
口—肛门长 Length up to vent	5.26±0.09	5.55±0.07	5.98±0.14	6.63±0.17	6.81±0.21	7.11±0.19	7.82±0.21	8.37±0.25	9.79±0.41
卵黄囊长 Length of yolk sac	2.51±0.05	1.76±0.03	1.51±0.11	1.23±0.07	1.14±0.08	0.81±0.08	0.69±0.02	—	—
最大卵黄囊高 Maximum height of yolk sac	2.19±0.03	1.54±0.11	1.27±0.15	1.02±0.23	0.89±0.13	0.72±0.15	0.57±0.06	—	—

所有数值均为 mean (*n*=25)±*SD*。

Each value is mean (*n*=25)±*SD*.

著提高繁殖效率（Pan et al, 2009, 2011）。

3.2 胚胎发育特点

本研究首次描述软鳍新光唇鱼的胚胎发育，其胚胎发育过程与宽口光唇鱼（*Acrossocheilus monticola*）（Yan et al, 1999）、云南光唇鱼（*Acrossocheilus yunnanensis*）（Tang & He, 1982）、倒刺鲃（*Spinibarbus denticulatus denticulatus*）（Yi et al, 2004）、中华倒刺鲃（*Spinibarbus sinensis*）（Huang et al, 2009）、黑脊倒刺鲃（*Spinibarbus caldwelli*）（Huang, 2009）、斑马鱼（*Danio rerio*）（Kimmel et al, 1995）和鱇鲌白鱼（*Anabarilius grahami*）等（Ma et al, 2008）较为相似，主要形态特征出现顺序基本相同，仅分期时间略有不同。相对于同属鲃亚科的倒刺鲃（44 h）、宽口光唇鱼（~57 h）、黑脊倒刺鲃（~60 h）、中华倒刺鲃（~60 h）和云南光唇鱼（66 h），软鳍新光唇鱼发育速度较慢，这可能与其较大的卵黄囊（Tang & He, 1982; Yan et al, 1999）和较低的孵化温度有关（Yan et al, 1999），与宽口光唇鱼、云南光唇鱼、倒刺鲃和斑马鱼相比，原肠胚末期，软鳍新光唇鱼胚体中部已可见体节雏形。

3.3 胚胎与仔鱼致畸原因分析

自然状况下，鱼类胚胎和仔鱼阶段畸形＜10%（Klumpp & Von Westernhagen, 1995）。西畴人工孵化畸形率较接近自然状况（2.4%~8.7%），而昆明的畸形率则较高（＞30%）。一般认为，胚胎与仔鱼畸形与自然环境中水的温度、硬度、pH、光周期以及食物组成和营养等密切相关（Bolla & Holmefjord, 1988; Haddy & Pankhurst, 2000）。昆明和西畴两地亲鱼的培育方案相同，但昆明种群培育效果优于西畴种群，初步认为昆明种群的胚胎和仔鱼畸形率偏高与水（温度等）和光周期等自然因素关系更大，且这些因素的协同作用可能导致了鱼卵早破现象。

鱼卵早破是指胚胎发育至原肠胚末期后，卵膜出现皱襞或塌瘪，在流水冲击下胚胎提前出膜，进而导致胚胎畸形的现象，其原因主要有：鱼卵质量差、孵化用水溶氧低及放卵密度过大等。卵子过熟或不成熟均为鱼卵质量差的表现，可体现于卵径大小、卵子形态等外部形态。孵化用水溶氧低可能是由于受精率低，死卵较多，不能及时将死卵移出孵化盆而引起水质恶化导致缺氧。放卵密度过大，水中溶解氧不能满足胚胎发育所需溶氧也会导致胚胎畸形。软鳍新光唇鱼发育至原肠胚期时，由于鱼卵质量较差、水温波动较大及水质恶化等原因，使细胞分裂时序紊乱，但在该时期很难观察到畸形产生。畸形主要出现在体节期，胚体没有伸长，尾芽发育停滞，出膜后尾部才继续发育，造成胚体脊索不能正常向前后伸直，或是弓背，或是弯尾，或是两者兼有，从而使神经管、脑、脊髓及眼睛不能正常分化。因此，在亲鱼培育管理中应尽量提供适合的养殖条件，如池塘大小、水质和光强度等。

另外，高活性新型鱼类催产剂的使用使得许多生殖功能紊乱鱼类在池塘养殖环境下得以繁衍。与传统催产剂（鱼脑垂体匀浆液和人体绒毛膜促性腺激素）相比，高活性新型鱼类催产剂催产效果好且稳定、成本低、效价稳定且排卵和产卵效应时间短而具规律性，有利于安排生产。但也有研究表明，使用催产剂效果不显著，而对鱼卵质量影响很大（Bonnet et al, 2007），如对虹鳟（*Oncorhynchus mykiss*）的人工催产研究显示，催产剂的使用是造成眼色素出现后的胚胎和出膜后仔鱼大量死亡的原因之一（Bonnet et al, 2007）

3.4 人工增殖实践中的问题

目前，鱼类早期胚胎畸形率高的机制尚不明

确。多数研究认为偏高或偏低的温度是导致胚胎和仔鱼大量畸形的主要原因之一（Huang et al, 2009），而在人工控制条件下，例如控制温度、溶氧等，并未降低胚胎畸形率，有时反而增高。在孵化过程中，除鱼卵质量外，某些物理因素也可导致胚胎死亡，例如孵化用水溶氧过高，在鱼卵周围集聚一个或数个气泡，使鱼卵长时间不能下沉，导致鱼卵死亡。这种情况主要发生在孵化后期，此时水质变肥，水温高时光合作用强，水中溶解氧过饱和，而及时加入新水则可解决该问题。

致谢：中国科学院昆明动物研究所的马莉协助处理胚胎发育照片；中国科学院昆明动物研究所的杨剑、刘淑伟、杨博、王伟营和蒋万胜参加了部分野外引种工作，西畴县第一中学的徐红梅和西畴县新街镇的徐清辉参加了西畴县珍稀鱼类养殖基地的亲鱼培育和人工繁殖工作，在此一并表示感谢！

参考文献：

Bolla S, Holmefjord I. 1988. Effect of temperature and light on development of Atlantic halibut larvae. *Aquaculture,* **74**(3-4): 355-358.

Bonnet E, Fostier A, Bobe J. 2007. Characterization of rainbow trout egg quality: A case study using four different breeding protocols, with emphasis on the incidence of embryonic malformations. *Theriogenology,* **67**(4): 786-794.

Chen SL, Liu XT, Lu DC, Zhang LZ, Fu CJ, Fang JP. 1992. Cryopreservation of spermatozoa of silver carp, common carp, blunt snout bream and grass carp. *Acta Zoologica Sinica,* **38**(4): 413-424. [陈松林, 刘宪亭, 鲁大椿, 章龙珍, 傅朝君, 方建平. 1992. 鲢、鲤、团头鲂和草鱼精液冷冻保存的研究. 动物学报, **38**(4): 413-424.]

Chen XY, Yang JX. 2003. A systematic revision of “Barbodes” fishes in China. *Zoological Research,* **24**(5): 377-386.

Chu XL, Chen YR. 1989. The Fishes of Yunnan, China. Part 1 Cyprinidae. Beijing: Science Press, 175-176. [褚新洛, 陈银瑞. 1989. 云南鱼类志 (上册). 北京: 科学出版社, 175-176.]

Haddy JA, Pankhurst NW. 2000. The effects of salinity on reproductive development, plasma steroid levels, fertilization and egg survival in black bream *Acanthopagrus butcheri*. *Aquaculture,* **188**(1-2): 115-131.

Horváth L, Tamás G, Seagrave C. 2002. Carp and Pond Fish Culture. 2nd ed. London and Now York: Blackwell Scientific Publications Ltd., 1-170.

Huang HG. 2009. Effects of water temperature on embryonic development and observation on postembryonic development of *Spinibarbus caldwelli*. *Journal of Hydroecology,* **2**(4): 84-88. [黄洪贵. 2009. 水温对黑脊倒刺鲃胚胎发育的影响及胚后发育观察. 水生态学杂志, **2**(4): 84-88.]

Huang HG, Hu ZX, Huang ZC, Huang LT, Wu MY. 2009. Effects of temperature on the embryonic and larvae development of *Spinibarbus sinensis*. *Freshwater Fisheries,* **39**(5): 28-31. [黄洪贵, 胡振禧, 黄种持, 黄柳婷, 吴妹英. 2009. 温度对中华倒刺鲃胚胎与仔鱼发育的影响. 淡水渔业, **39**(5): 28-31.]

Kimmel CB, Ballard WW, Kimmel SR, Ullmann B, Schilling TF. 1995. Stages of embryonic-development of the zebrafish. *Developmental Dynamics,* **203**(3): 253-310.

Klumpp DW, Von Westernhagen H. 1995. Biological effects of pollutants in Australian tropical coastal waters: embryonic malformations and chromosomal aberrations in developing fish eggs. *Marine Pollution Bulletin,* **30**(2): 158-165.

Ma L, Pan XF, Wei YH, Li ZY, Li CC, Yang JX, Mao BY. 2008. Embryonic stages and eye-specific gene expression of the local cyprinoid fish *Anabarilius grahami* in Fuxian Lake, China. *Journal of Fish Biology,* **73**(8): 1946-1959.

Pan XF, Liu SW, Li ZY, Yang JX. 2009. Artificial propagation and larvae cultivation of *Sinocyclocheilus tingi*. *Zoological Research,* **30**(4): 463-467. [潘晓赋, 刘淑伟, 李再云, 杨君兴. 2009. 抚仙金线鲃人工繁殖与鱼苗培育技术. 动物学研究, **30**(4): 463-467.]

Pan XF, Yang JX, Chen XY, Li ZY. 2011. Broodstocks management, fecundity and the relationship between egg size and embryo survival ability of *Sinocyclocheilus grahami* (Regan). *Zoological Research,* **32**(2): 196-203.[潘晓赋, 杨君兴, 陈小勇, 李再云. 2011. 滇池金线鲃亲鱼培育、繁殖力以及卵径大小与胚胎存活率的关系. 动物学研究, **32**(2): 196-203].

Tang AH, He XF. 1982. Observation on embryonic and postembryonic development of *Acrossocheilus yunnanensis* (Regan). *Journal of Southwest Normal College,* **7**(1): 90-99. [唐安华, 何学福. 1982. 云南光唇鱼 *Acrossocheilus yunnanensis* (Regan)的胚胎和胚后发育的初步观察. 西南师范学院学报, **7**(1): 90-99.]

Tsukamoto K, Masuda R, Kuwada H, Uchida K. 1997. Quality of fish for release: behavioural approach. *Bulletin of the National Research Institute of Aquaculture,* **3**(Suppl 1): 93-99.

Vay LL, Carvalho GR, Quinitio ET, Lebata JH, Ut VN, Fushimi H. 2007. Quality of hatchery-reared juveniles for marine fisheries stock enhancement. *Aquaculture,* **268**(1-4): 169-180.

Wang XA, Yang JX, Chen XY, Pan XF, Li ZY. 2012. Cryopreservation of sperm from *Neolissochilus benasi*. *Zoological Research,* **33**(2): 188-195. [王晓爱, 杨君兴, 陈小勇, 潘晓赋, 李再云. 2012. 软鳍新光唇鱼精子的超低温冷冻保存. 动物学研究, **33**(2): 188-195.]

Xing YC, Zhao YH, Li GY, Tang WQ, Zhang CG. 2011. Early development of *Zacco Platypus* (*Cyrriniformes: cyprinidae*) distributed in Beijing. *Acta Hydrobiologica Sinica,* **35**(5): 808-816. [邢迎春, 赵亚辉, 李高岩, 唐文乔, 张春光. 2011. 北京地区宽鳍鱲的早期发育. 水生生物学报, **35**(5): 808-816.]

Yan TM, He XF, He JH. 1999. Observations on embryonic development of *Acrossocheilus* (*A.) monticola* (Günter). *Acta Hydrobiologica Sinica,* **23**(6): 636-640. [严太明, 何学福, 贺吉胜. 1999. 宽口光唇鱼胚胎发育的研究. 水生生物学报, **23**(6): 636-640.]

Yang J, Pan XF, Chen XY, Yang JX. 2010. Status and conservation strategy of fish resources in Lixianjiang River. *Journal of Hydroecology,* **3**(2): 54-60. [杨剑, 潘晓赋, 陈小勇, 杨君兴. 2010. 李仙江鱼类资源的现状与保护

对策. 水生态学杂志, **3**(2): 54-60.]

Yang JX, Pan XF, Chen XY, Wang XA, Zhao YP, Li JY, Li ZY. 2013. Overview of the artificial enhancement and release of endemic freshwater fish in China. *Zoological Research,* **34**(4): 267-280. [杨君兴, 潘晓赋, 陈小勇, 王晓爱, 赵亚鹏, 李建友, 李再云. 2013. 中国淡水鱼类人工增殖放流现状. 动物学研究, **34**(4): 267-280.]

Yang YH, Yang JX, Pan XF, Zhou W, Yang ML. 2011. Fishery resource protection by artificial propagation in hydroelectric development: Lixianjiang River drainage in Yunnan as an example. *Zoological Research,* **32**(2): 188-195. [杨永宏, 杨君兴, 潘晓赋, 周伟, 杨美临. 2011. 云南李仙江流域水电开发中的鱼类资源保护. 动物学研究, **32**(2): 188-195.]

Yi ZS, Chen XL, Wang C, Lin XT. 2004. Embryonic development in *Spinibarbus denticulatus denticulatus*. *Journal of Fishery Sciences of China,* **11**(1): 65-69. [易祖胜, 陈湘粦, 王春, 林小涛. 2004. 倒刺鲃胚胎发育的研究. 中国水产科学, **11**(1): 65-69.]

Yin MC. 1995. Ecology of Fishes. Beijing: Agriculture of China Press, 1-293. [殷名称. 1995. 鱼类生态学. 北京: 中国农业出版社, 1-293.]

Zhang CG, Zhao YH. 2000. Early development of Chinese sucker (*Myxocyprinus asiaticus*). *Acta Zoologica Sinica,* **38**(4): 438-447. [张春光, 赵亚辉. 2000. 胭脂鱼的早期发育. 动物学报, **38**(4): 438-447.]

动　物　学　研　究　2013，Dec. 34(6): 626−630　　CN 53-1040/Q　ISSN 0254-5853
Zoological Research　　DOI:10.11813/j.issn.0254-5853.2013.6.0626

金沙江中上游中华金沙鳅（*Jinshaia sinensis*）产卵场的发现及意义

刘淑伟[1]，杨君兴[1,*]，陈小勇[1,*]

中国科学院昆明动物研究所 遗传资源与进化国家重点实验室，云南 昆明　650223

摘要：该研究分别于 2012 年 4 月、7—8 月及 11 月针对云南省金沙江梨园电站影响区域的鱼类早期资源进行了 3 次监测。并于 2012 年 7—8 月对云南省玉龙县大具乡大具渡口金沙江的监测中，发现中华金沙鳅（*Jinshaia sinensis*）卵汛两次，分别为 8 月 1 日 8：00—4 日 10：00 和 8 月 9 日 23：00—13 日 6：00。结果发现，中华金沙鳅鱼卵卵径 3.37~4.41 mm，平均 3.89 mm，自然受精率为 91.5%，模拟培养出膜率为 97.1%，畸形率为 2.2%；产卵场共 3 处，分别位于云南省玉龙县龙蟠镇、黎明乡和巨甸镇；三处产卵场两次产卵共计~1.49×10^7 ind.。此次产卵场的发现是对以往中华金沙鳅生物学资料的重要补充，对电站建设背景下金沙江鱼类资源的保护具指导意义。

关键词：金沙江中上游；中华金沙鳅；产卵场
中图分类号：Q959.46⁺8　　**文献标志码**：A　　**文章编号**：0254-5853-(2013)06-0626-05

Discovery and its significance of spawning grounds of *Jinshaia sinensis* from upper and middle Jinshajiang River

Shu-Wei LIU[1]，Jun-Xing YANG[1,*]，Xiao-Yong CHEN[1,*]

State Key Laboratory of Genetic Resources and Evolution，*Kunming Institute of Zoology*，*Chinese Academy of Sciences*，*Kunming* 650223，*China*

Abstract: During April, July to August and November of 2012，three surveys were conducted to estimate the early-stage fish resources in the area of Liyuan power station on Jinshajiang River of Yunnan Province. During the survey conducted at the crossing of Daju Town, Yulong County, Yunnan Province, from July to August, 2012, two egg-tides of *Jinshaia sinensis* were detected. One was from 8:00 of August 1st to 10:00 of August 4th and the other one was from 23:00 of August 9th to 6:00 of August 13th. The average egg diameter was 3.89 mm, ranging from 3.37 to 4.41 mm. Natural fertilization and hatching rate as well as abnormality rate in mimic wild environment were 91.5%, 97.1% and 2.2%, respectively. Meanwhile, three spawning grounds had been conjectured, which were Longpan Town, Liming Town and Judian Town of Yulong County, Yunnan Province. Moreover, the total number of eggs from those three spawning grounds during the two egg-tides was approximately 1.49×10^7 ind.. The discovery of the three spawing grounds is of importance in fullfilling the study of *Jinshaia sinensis*, and in protecting fish resources under the influences of power stations.

Keywords: Upper and middle Jinshajiang River; *Jinshaia sinensis*; Spawning ground

金沙江位于我国青藏高原、云贵高原和四川盆地的西部边缘，其干流自青海省玉树州直达四川宜宾，全长~2 360 km，落差 3 280 m，是世界少有的水能资源富集的河流（Guo，2004）。近年来，随着干、支流电站的不断规划及建成，金沙江部分江段水文情势发生了巨大改变，电站蓄水使原本的激流环境变成了库区，大坝的修建也基本隔断了鱼类上、下游的基因交流。因此，电站影响着局部乃至整个流域的鱼类资源，鱼类早期资源的定期监测和针对性保护已刻不容缓。在云南金沙江中游水电开发有限公司的委托下，本研究分别于 2012 年 4 月、7—8 月及 11 月针对云南省金沙江梨园电站影响区域的鱼类早期资源组织了 3 次监测，并在 2012 年 7—8 月对云南省玉龙县大具乡大具渡口金沙江的监测中，发现中华金沙鳅（*Jinshaia sinensis*）卵汛两次，在此予以报道。

收稿日期：2013-04-01；接受日期：2013-06-10
基金项目：科技基础性工作专项（2012FY111200）；云南金沙江中游水电开发有限公司资助项目（LY2012/S04）
*通信作者（Corresponding authors），E-mail：yangjx@mail.kiz.ac.cn；chenxy@mail.kiz.ac.cn

中华金沙鳅隶属鲤形目（Cypriniformes）爬鳅科（Balitoridae）金沙鳅属（*Jinshaia*），广泛分布于金沙江中、下游及长江上游的干、支流，为典型激流型鱼类。目前，关于其产卵场的研究尚较为零散，综合 Qiao（2005）、Duan（2008）、Wang（2008）以及 Tang（2010）的研究，中华金沙鳅已知的产卵场均位于金沙江中、下游及长江上游。

1　材料与方法

1.1　监测时间与断面设置

2012 年 7 月 25 日—8 月 25 日，选取云南省玉龙县大具乡大具渡口金沙江左岸（N27°19′43.5″，E100°14′18.7″，海拔 1 589 m）为调查断面，以大具渡船为采集平台，采集地点离左岸~7 m。

1.2　采集方法

采用锥形采集网，网口圆形，面积为 0.196 m^2，锥形网口铁圈上焊接钢管以固定于船头捞取鱼卵，采集网保持与水流垂直，淹没于水下 15 cm。每天采集 3 组，即每 8 h 一组，昼夜采样，每组为连续 6 次捞取鱼卵的总和，每次捞取时间为 10 min。以 LJD-2 型流速仪（重庆水文仪器厂）记录网口流速及水流流速，对采集到的鱼卵逐个编号，单独培养，解剖镜观察并使用 Mshot 数字成像系统（广州明美科技有限公司）拍照、测量及记录。

1.3　鱼卵、鱼苗鉴定及数据分析

首先通过形态学判断中华金沙鳅鱼卵及鱼苗。形态学无法鉴定的种则通过“DNA 条形码技术”即测序其线粒体细胞色素 c 氧化酶亚基 I（*COI*）基因序列，在 GenBank 中 BLAST 比对，快速鉴定。测序引物及方法按照 Peng et al (2009)，所得序列已提交到 GenBank（Accession No. grp4373816）。

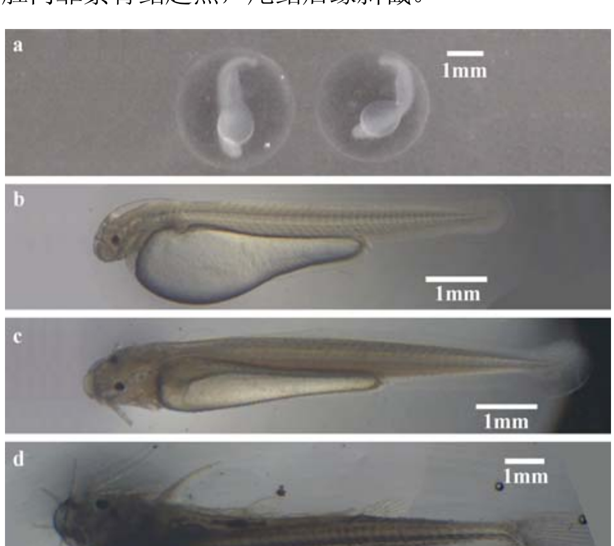
将每日采集时间、采集鱼卵和仔鱼数及网口流速等数据输入 Excel 2007 电子表格进行统计分析。产卵场位置估算按照 Yi et al（1988）的计算公式：$L=VT$，其中，L 为鱼卵（鱼苗）的漂流距离，V 为采集江段的平均流速，T 为胚胎发育所经历的时间。产卵规模估算分两个步骤：（1）鱼卵密度 $d=n/(a\times v\times t)$，其中，n 为卵汛开始至结束所有批次采集到的鱼卵总数（ind.），a 为网口有效截流面积（m^2），v 为网口流速，取 3 次测量平均值（m/s），t 与 n 相对应，为卵汛开始至结束所有批次总耗时间（s）；（2）产卵规模 $m=q\times d\times c\times t'$，其中，m 为产卵总量（ind.），q 为江水径流量（m^3/s），d 为卵密度（ind./m^3），c 为断面系数，t′为卵汛持续总时间（s）。

2　结　果

2.1　鱼卵及鱼苗种类鉴定

2.1.1　形态学鉴定

本次调查所捞取鱼卵均为中华金沙鳅鱼卵，其胚胎、仔鱼形态如图 1。卵及胚胎呈漂流性，吸水膨胀后卵膜径~4 mm，卵膜无色，薄且透明，富有弹性，胚胎略显白色，半透明（图 1a）。刚出膜仔鱼（图 1b）身体粗大，淡黄色，卵黄囊呈长梨形；背鳍褶发达，前端伸过第三对肌节，腹鳍褶很小；头略下弯，眼小，黑色，嗅囊很大。中期仔鱼（图 1c）体淡黄色，出现两对明显口角须，外侧一对较长，卵黄囊被吸收，狭长，尾鳍圆形。晚期仔鱼（图 1d）体褐色，口部口角须、吻须各两对，须上具感觉刚毛（图 1e），外侧口角须细长，可伸达鳃盖；背鳍鳍条七根，其起点位于吻端与尾鳍基的中点稍前，臀鳍鳍条五根，胸鳍宽大，胸鳍平面与身体成~45°夹角，使身体直立，极难平卧，腹鳍起点位于背鳍起点稍前；肛门靠紧臀鳍起点，尾鳍后缘斜截。



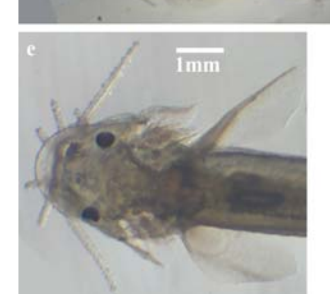


图 1　中华金沙鳅卵、胚胎及仔鱼形态

Figure 1　Morphology of egg, embryo and larva of *Jinshaia sinensis*

对照《长江鱼类早期形态发育与种类鉴别》图片、文字描述及检索表，可见待鉴定鱼苗发育各期形态最接近物种为犁头鳅（*Lepturichthys fimbriata* Günther）或中华金沙鳅。

2.1.2 分子生物学鉴定

在 GenBank 中通过 BLAST 比对待鉴定鱼苗 *COI* 基因序列片段（共 803 bp），结果显示，得分最高的前 10 条序列为中华金沙鳅和短身金沙鳅（*Jinshaia abbreviate*）（Günther）各 5 个。待鉴定鱼苗 *COI* 基因序列与该 10 条序列的相似度（max identity）均在 99.5%以上，同时，比对序列覆盖范围（query cover）为 100%，E 值为 0，鉴定结果可信。由于待鉴定鱼苗与中华金沙鳅和短身金沙鳅均接近，故下载上述 10 条序列并采用 NJ、MP、ML 三种方式构建系统发育树（图 2）。

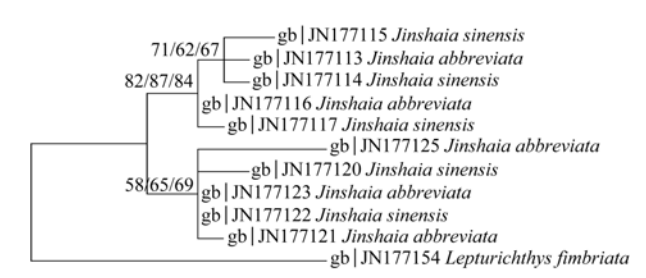


图 2 基于 NJ、MP、ML 三种方法构建的系统树（节点处显示的依次为 NJ、MP、ML 树支持率）

Figure 2 Phylogenetic tree inferred from NJ, MP and ML methods (numbers in the nodes indicated the bootstrap values of NJ/MP/ML)

所得结果一致显示，该 10 条序列所代表的两种鱼类无法区分。而在核对了 Yue（2000）所列举的所有形态学区别特征后发现，这些特征均不稳定或差异不明显。以上结果提示，这两种金沙鳅可能为同一种，本研究在此暂不区分两者，并将所采集鱼苗定名为中华金沙鳅。

2.2 鱼卵及鱼苗质量

本次调查共采集到鱼卵 153 颗，卵径 3.37~ 4.41 mm，平均 3.89 mm，其中受精卵 140 颗，未受精卵 13 颗，即野外自然状态下的受精率为 91.5%。模拟江水温度（19.1~23.5 ℃）孵化受精卵过程中，胚胎期死亡 4 颗，正常出膜 136 颗，出膜率为 97.1%，且出膜仔鱼中有 3 尾为畸形，畸形率为 2.2%。

2.3 产卵时间与频次

2012 年 7 月 25 日—8 月 25 日（32 d），共监测到卵汛两次，第一次为 8 月 1 日 8：00—4 日 10：00，规模相对较大，产卵高峰期在 8 月 2 日；第二次为 8 月 9 日 23：00—13 日 6：00，规模相对较小，产卵高峰在 8 月 10 日（图 3）。由此可见，中华金沙鳅群体每次产卵持续 4~5 d，产卵高峰期约在开始产卵后的第二日。

2.4 产卵地点推测

经观察，采集到的中华金沙鳅鱼卵所处的发育期并不连续，而是仅分布于 13 个时期，并呈现 3 个波峰，即桑椹胚期、尾泡出现期和耳石出现期（图 4）。

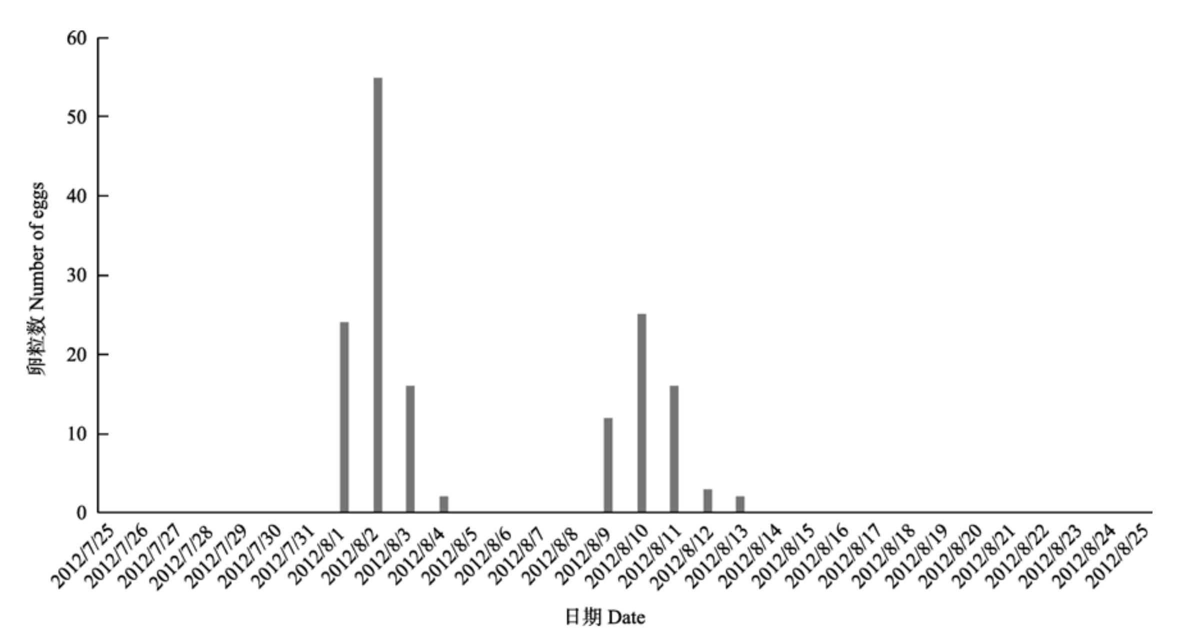


图 3 监测期每天采集的卵粒数量

Figure 3 Numbers of daily collected eggs

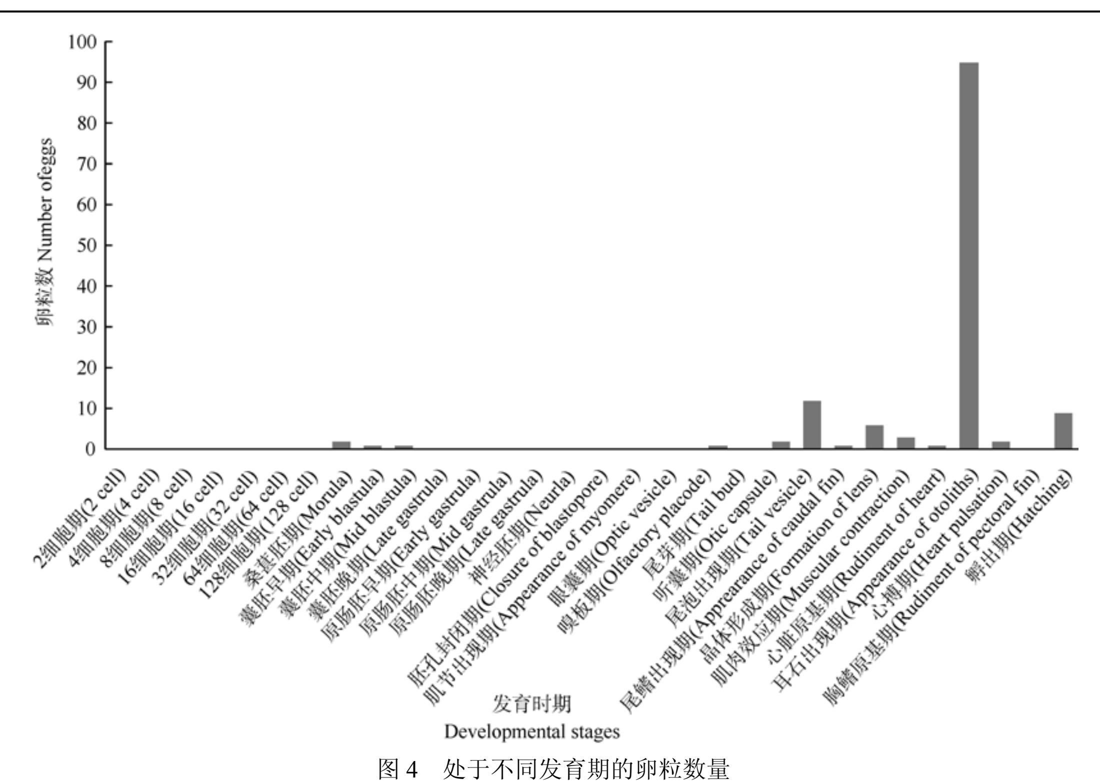


图 4 处于不同发育期的卵粒数量

Figure 4 Numbers of eggs from each developmental stage

由此可以推断，监测断面以上存在 3 个产卵场。采取实际测量及查阅资料等方式获取各江段长度、水流平均速度（*V*）及中华金沙鳅各期发育时间（*T*）等，不同江段以不同水流速度进行计算。

速度（*V*）：大具至下虎跳峡以及虎跳峡以上江段水流速度均取实测值，其平均流速分别为 2.55 和 2.32 m/s，虎跳峡江段~18 km，水流平均速度为 3.87 m/s（数据由云南金沙江中游水电开发有限公司提供）。

时间（*T*）：参考 Wang（2008）对中华金沙鳅早期发育的研究，并根据实际培养时间确定 3 个波峰发育期所经历的时间，桑葚胚期为 205 min、尾泡出现期为 750 min、耳石出现期为 1 100 min。

经计算，3 个产卵场距离采集地大具的距离分别为 36、112 和 161 km，并由此推断 3 个产卵场的大概位置分别为云南省玉龙县虎龙蟠镇、黎明乡和巨甸镇（图 5），3 个产卵场在时间上基本一致。

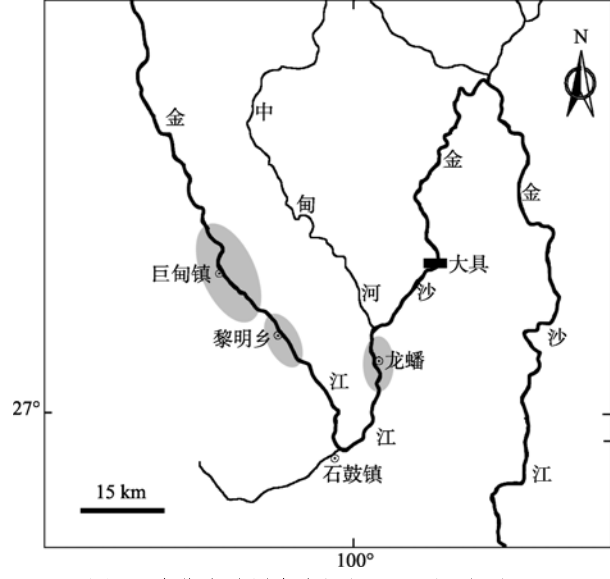


图 5 中华金沙鳅产卵场位置（阴影部分）

Figure 5 Locations of spawning grounds of *Jinshaia sinensis* (shaded areas)

2.5 产卵规模推测

2.5.1 鱼卵密度（*d*）

分别计算两次卵汛鱼卵密度（*d*1 及 *d*2）。两次卵汛分别采集到的卵数目（*n*）为 97 及 58 ind.，由于网口固定垂直于水流，因此 *a* 以网口面积计算（m^2），网口流速（*v*）为 3 次实测的平均值，分别统计两次卵汛期间所有监测批次累计时间（*t*）对应卵的总数（*n*）。经计算，*d*1 及 *d*2 分别为 0.0083 及 0.0048 ind./m^3。

2.5.2 产卵规模（*m*）

两次卵汛产卵总量分别计为 *m*1 及 *m*2。江水径流量（*q*）取 8 月份多年径平均径流量 3 280 m^3/s（数据由云南金沙江中游水电开发有限公司提供），由于

该江段水流湍急、紊乱，断面系数（c）计为 1，两次卵汛持续时间（*t*'）分别统计。经计算，*m*1 及 *m*2 分别为：9.41×10^6 及 5.44×10^6 ind.。因此，监测期内，中华金沙鳅产卵总量（*M*）=*m*1+*m*2，即 1.49×10^7ind.。

3 讨 论

由于野外调查条件有限，金沙江水流又十分湍急，很多数据难以准确获得，例如，各发育期时间、断面系数及断面径流量等均为推测值，这些无疑使产卵场位置及产卵规模推测等都存在一定误差，因此，这两项结果仅供参考。

本研究所发现的中华金沙鳅鱼类产卵场位于虎跳峡以上的金沙江中、上游，海拔 1 800 m 以上，是已知海拔最高、位于金沙江最上游的产卵场。产卵时间在 8 月份，相对于 Qiao（2005）、Duan（2008）和 Wang（2008）报道的 5—7 月份明显较晚，原因可能有两方面：（1）下游电站逐渐建成、蓄水，原有产卵场失去了其产卵条件，鱼类被迫转往上游寻找合适环境；（2）产卵场所处海拔较高，水温上升要滞后下游一段时间，故产卵也推后一段时间。

中华金沙鳅在金沙江上游产卵场的发现是对现有金沙鳅鱼类生物学资料的一项重要补充，对了解其所代表的激流型、产漂浮性卵鱼类的生态学具有很高参考价值，且对该类型鱼类迁地保护具重要指导意义。

随着金沙江中、下游干、支流梯级电站的不断建成，原有江段的激流环境变成了水面库区，迫使激流型鱼类、流水产卵鱼类及产漂浮性卵的鱼类向上迁移，而金沙江上游电站也已经在规划建设中。因此，再次评估金沙江中、上游鱼类资源及鱼类早期资源现状并加以保护已十分迫切。本研究首次在金沙江中、上游江段发现了长江上游特有鱼类中华金沙鳅的产卵场，对了解并保护金沙江中、上游鱼类资源及鱼类早期资源现状有很大帮助，且对待建电站的规划也具指导意义。

根据中华金沙鳅鱼类产卵场研究，这一类型鱼卵发育需要 200 km 以上的流水环境，因此，本研究建议上游电站规划时须预留一定的生态流量，并保持 200 km 以上的自然江段。

致谢：感谢本课题组杜丽娜、彭云、赵婷怡、杨坤凤及大理学院李廷野等对本研究的大力协助。

参考文献：

Duan XB. 2008. Studies on fish resources and the fishes of early life history stage in the upper Yangtze River. Master's Degree，Huazhong Agricultural University，1-63. [段辛斌. 2008. 长江上游鱼类资源现状及早期资源调查研究. 硕士学位论文, 华中农业大学. 1-63.]

Guo WM. 2004. Developing the hydro-energy resources of Jinshajiang river and optimizing Chinese energy distributing configuration. *Sci/tech Information Development & Economy*，**14**（8）：74-75. [郭为民. 2004. 开发金沙江水能资源优化我国能源配置格局. 科技情报开发与经济，**14**（8）：74-75.]

Peng JL., Wang XZ., Wang D., He SP. 2009. Application of DNA barcoding based on the mitochondrial CO I gene sequences in classification of Culter (Pisces: Cyprinidae). Acta Hydrobiologica Sinica, **2**, 271–276.[彭居俐，王绪祯，王丁，何舜平. 2009. 基于线粒体 COI 基因序列的 DNA 条形码在鲤科鲌属鱼类物种鉴定中的应用. 水生生物学报, 2, 271–276]

Qiao Y. 2005. Early morphogenesis and species identification of fishes in Yangtze River. Ph.D. thesis，Doctoral Dissertation of Science，Chinese Academy of Sciences，1-218. [乔晔. 2005. 长江鱼类早期形态发育与种类鉴别. 博士学位论文，中国科学院研究生院，1-218.]

Tang XL. 2010. Studies on early fish resources in Jiangjin Cross-Section in the Upstream of Yangtze River. Master's degree Thesis. Dissertation for Master Degree of Southwest University，1-51. [唐锡良. 2010. 长江上游江津江段鱼类早期资源研究. 硕士学位论文，西南大学，1-51.]

Wang QQ. 2008. Study on fish resources of early life history stages in Chishui River and research on early development of nine kinds of fish. Master's Degree，Central China Normal University，1-80. [王芊芊. 2008. 赤水河鱼类早期资源调查及九种鱼类早期发育的研究. 硕士学位论文，华中师范大学，1-80.]

Yi BL，Yu ZT，Liang ZS. 1988. Gezhouba Water Control Project and Four Carps of Yangtze River. Wuhan： Hubei Science Press. [易伯鲁，余志堂，梁秩燊. 1988. 葛洲坝水利枢纽与长江四大家鱼. 武汉：湖北科学技术出版社.

Yue PQ 2000. Fauna Sinica （Osteichthyes： Cypriniformes III）. Beijing：Science Press. [乐佩奇. 2000. 中国动物志·硬骨鱼纲· 鲤形目（下卷）. 北京：科学出版社.]

动 物 学 研 究 2013，Dec. 34(6): 631−635 CN 53-1040/Q ISSN 0254-5853
Zoological Research DOI:10.11813/j.issn.0254-5853.2013.6.0631

草鱼引入对滇池湖体海菜花消亡的影响

杨君兴，舒树森，陈小勇*

中国科学院昆明动物研究所 遗传资源与进化国家重点实验室，云南 昆明 650223

摘要：1976 年，曾经繁盛在滇池的海菜花群落消亡并引起了广泛讨论。该文通过对相关文献的整理和分析，重建了 1950—2000 年滇池水环境、水生植物与鱼产量变化趋势图，发现滇池外海海菜花消失的时间早于污染爆发，而与滇池鱼产量增加的时间基本一致，并由此提出：滇池外海海菜花群落消失主要归因于 20 世纪 60 年代草鱼的过量放养，而围湖造田和后期污染则使海菜花种群难以恢复。

关键词：草鱼；海菜花；消亡；滇池

中图分类号：Q949.71+2.7 **文献标志码**：A **文章编号**：0254-5853-(2013)06-0631-05

Effect of grass carp introduction of the extinction of *Ottelia acuminata* in Dianchi Lake

Jun-Xing YANG, Shu-Sen SHU, Xiao-Yong CHEN*

State Key Laboratory of Genetic Resources and Evolution, Kunming Institute of Zoology, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650223, *China*

Abstract: *Ottelia acuminata* was a dominant macrophyte in Dianchi Lake prior up through the 1970s, when it was thought to have gone extinct in 1976. Various theories have been proposed as to its extinction, with a particular focus on pollution-driven factors. By comparing the historical records on pollution and fish yields of Dianchi Lake from the 1950s to early 2000, we found that the extinction of *O. acuminata* from Dianchi Lake occurred earlier than the documented spread of pollution. The surveyed data also demonstrate that the extinction of *O. acuminata* was likely caused primarily by the massive introduction of grass carp, from1958 to 1973. Future reclamation of lake bays and pollution may yield some impact on the restoration of the *O. acuminata* population even after the decline of grass carp population.

Keywords: *Ottelia acuminate*; Extinction; Grass crap introduction; Dianchi Lake

海菜花[*Ottelia acuminata*（Gagnep.）Dandy]为水鳖科（Hydrocharitaceae）沉水植物，生长于海拔低于2 700 m的湖泊、池塘、沟渠和深水田等，属中国特有种，分布于云南、四川、贵州、广西和海南等地（Li，1981）。

“高原明珠”滇池是云贵高原湖群中面积最大的湖泊，位于云南省中部，湖泊面积~300 km^2，最深处~5.7 m，平均水深~4.1 m，容积~12.10×10^9 m^3。滇池北端湖堤——“海埂”，系由湖泊泥沙在以西南风为主所形成的湖流作用下自然堆积而成，将滇池分为草海（~10 km^2）和外海（~290 km^2）两部分（Zhang et al，1987）。

20世纪60年代以前，海菜花群落在滇池占有显著地位，其黄蕊白瓣的花全年盛开并浮于水面，将滇池妆点得繁花似锦，人们誉之为“花湖”、“花海”，沿湖渔民也采集海菜花花葶和佛焰苞煮汤，其味细腻鲜美，胜过海味（Li，1985）。70年代，海菜花在滇池的种群数量开始迅速下降，至1976年，Li（1985）对滇池进行全湖水生植物调查时，仅三次见到海菜花。此后在延续7年的逐年调查中，均未在滇池发现过海菜花。1976年为海菜花从滇池消失的时间确切时间记录。海菜花从滇池消失的原因引起了广泛讨论，基本结论有两种：Qu & Li（1983）认为水体污染导致了海菜花等水生植物失去光合作用能力，并最终消亡；Li（1985）则认为滇池的海菜花在污染下走向了衰败，而在草鱼（*Ctenopharyngodon*

收稿日期：2013-03-04；接受日期：2013-05-17

基金项目：云南省社会发展科技计划（2012CA014）；云南省环保厅九湖水污染防治专项；水体污染控制与治理科技重大专项（2012ZX07102004）

*通信作者（Corresponding author），E-mail: chenxy@mail.kiz.ac.cn

idella（Valencienes））过量放养后走向了灭绝。上述两种结论均把海菜花从滇池消亡的首要原因归咎为水体污染。

近年来，随着湿地恢复研究的深入，中国科学院昆明动物研究所率先在滇池湖体回植海菜花，并取得了成功（Shu et al，2007）。目前，海菜花已在上海等地进行移种实验（Wang，2011）。这些成功经验显示，曾经被视为对污染敏感的海菜花已逐渐作为治理富营养化水体的理想物种。这种转变提醒我们应该重新审视海菜花在滇池消亡的真正原因。

1 材料及方法

本研究数据主要来源于昆明市滇池管理局历史记录及相关文献，重点为 20 世纪 50 年代—90 年代后期滇池水环境和鱼产量的变化趋势，同时，结合本实验室的历史野外调查以及沿湖渔民访问资料。草鱼取食海菜花实验于滇池东岸湿地进行。

2 结果与分析

2.1 20 世纪中后期滇池水质变化趋势

1960 年之前，滇池草海和外海水质基本相同，主要污染为老年性湖泊的内源污染，总磷（TP）及总氮（TN）分别为 0.13 及 0.5 mg/L，综合评定为III类水。20 世纪 60 年代未见相关水质报告。70 年代以后，草海水质开始恶化，总氮、总磷等营养盐增加，浓度最高达 0.78 和 0.3 mg/L，综合评定为劣Ⅴ类水，外海水质整体良好，总氮和总磷最高浓度分别为 0.34 和 0.23 mg/L，为III类水。80 年代以后，草海水质急剧恶化，尤其是总氮迅速升高，到 90 年代最高值达到 7.14 mg/L，污染严重。外海总氮和总磷也呈逐年呈增高态势，到 90 年代末期最高值分别达到 1.2 和 0.18 mg/L，基本维持在Ⅴ类水水平（图 1）。

此外，滇池草海和外海透明度均呈下降趋势（图 2）。1960 年之前，湖泊透明度为 2~4 m，多处可见湖底。1978 年之前，外海透明度为 0.35~2 m，不同地点透明度变化较大，而草海则迅速下降至 0.23~ 0.6 m，水体混浊。80 年代后，外海透明度继续下降，基本维持在 0.21~1.6 m，局部依然维持较好透明度，草海透明度下降至＜0.4 m。90 年代以后，外海透明度维持在 0.68 ~1.4 m，草海则下降至＜0.2 m。

2.2 滇池鱼产量变化

1941 年，滇池鱼产量仅为 60 t，至 1956 年，缓慢上升至 385 t。1958 年以后，“四大家鱼”鱼苗被人工放流到滇池，滇池鱼产量迅速上升，1969 年达到顶峰，为 6 160 t（图 2），此后逐年下降，1976 年后才稳步回升。

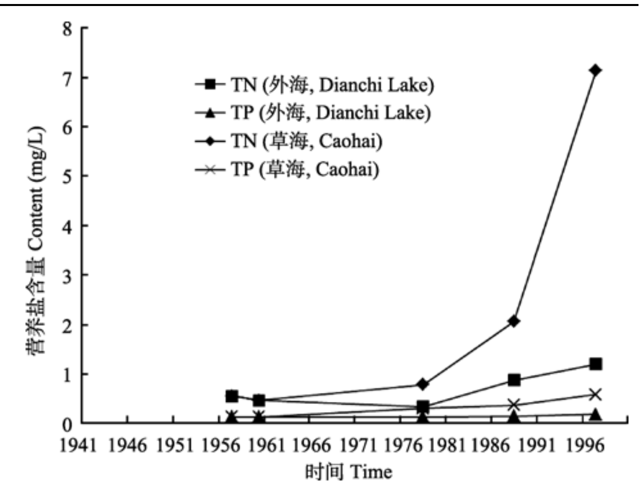


图 1 滇池水体营养盐变化趋势图（数据来源：Ley et al，1963；Yu et al，2000）

Figure 1 Trends in nutrient changes in Dianchi Lake(data from Ley et al，1963；Yu et al，2000)

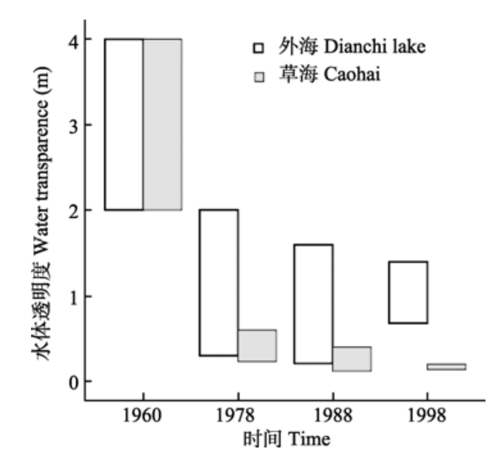


图 2 滇池水体透明度变化趋势图（数据来源：Ley et al，1963；Yu et al，2000）

Figure 2 Trend in water transparence changes in Dianchi Lake (data from Ley et al, 1963; Yu et al, 2000)

2.3 滇池湖体海菜花及水生植物变化趋势

滇池水生植物调查始于 1958 年，以水生植物群落结构研究较多，而生物量变化研究则相对较少。20 世纪 50 年代，滇池草海水生植物丰富，外海沿岸带也有大量水生植物生长（Ley et al.，1963），水生植物盖度达 90%，生物量为~81.6×10^4 t。1983 年，湖泊水生植物盖度仅为 12.6%，生物量下降至 13.6×10^4 t，分布面积和生物量均大幅度下降。1996 年，湖泊水生植物进一步萎缩，盖度仅为湖泊的 1.8%，生物量下降至 1.36×10^4 t（图 4）。

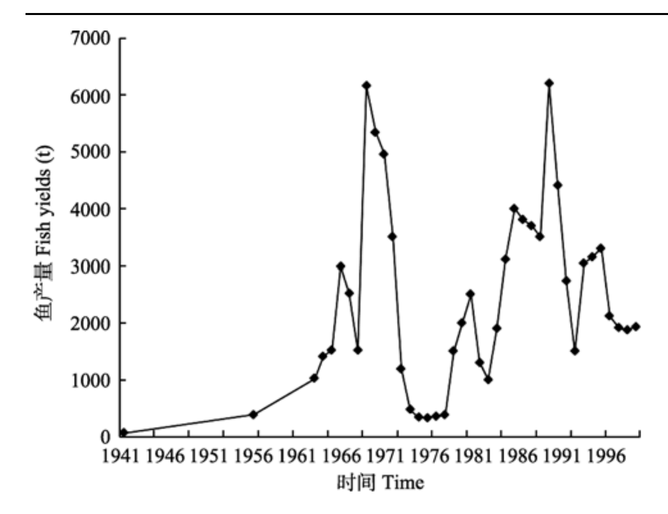


图 3　滇池鱼产量变化趋势图（数据来源：Gao et al，1990；Peng，2002；Zhang et al，1987）

Figure 3　Trend in fish yields in Dianchi Lake (data from: Gao et al, 1990; Peng, 2002; Zhang et al, 1987)

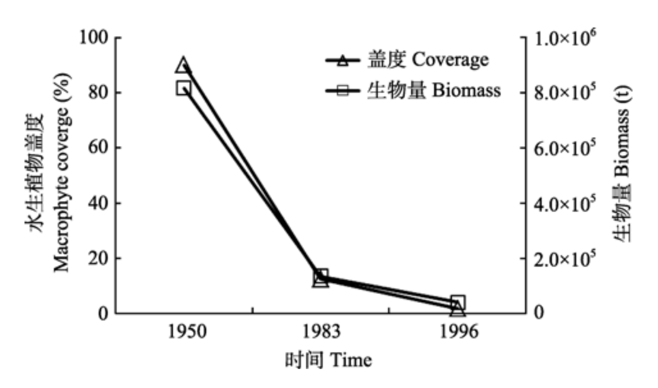


图 4　滇池水生植物盖度和生物量变化趋势图（数据来源：Dai，1985；Xu et al，2006；Yu et al，2000）

Figure 4　Trends in macrophyte coverage and biomass in Dianchi Lake (data from Dai, 1985; Xu et al, 2006;Yu et al, 2000)

海菜花消失于 1976 年，此前 10 余年基本未见任何可供参考的滇池生态学资料。从调查报告上看，70 年代，湖体中的海菜花已寥寥无几（Li，1985），可见，滇池湖体中的海菜花在 70 年代初期就已大量消亡。

2.4　水质污染

由滇池水质变化趋势图可见，草海和外海污染经历的时间并不一致。20 世纪 70 年代，草海每天受纳生活污水 3.7×10^4 m^3，工业废水 3.3×10^5 m^3（Duan et al, 1983），在 1978 年之前就已成为了Ⅴ类水，污染可能是导致草海中海菜花消失的重要原因。外海每天受纳生活污水 1.7×10^4 m^3，工业废水 6.6×10^4 m^3（Duan et al,1983），在 1978 年之前仍保持Ⅲ类水，总氮和总磷监测数据与 1957 年的监测结果相当。外海已通过湖泊自净作用将污染物转化，其水质并未发生较大变化，而海菜花在此期间即已消亡。由此可见，外海海菜花消亡早于污染的发生，并不能简单的用水体营养水平增高来解释。

水下光照条件是影响沉水植物生长的重要因子，国内、外对水生植物与透明度的关系进行了很多研究，Chambers & Kaiff（1985）根据加拿大和世界资料，提出大型沉水植物分布深度和透明度之间的回归方程式 1，我国学者根据长江中、下游湖泊资料，也提出了类似的回归方程式 2（Qiu & Wu，1998）。

回归方程式 1：$(Zc)^{0.5}=1.33\log D+1.40$（$r=0.76$，$P<0.0001$）

回归方程式 2：$(Zc)^{0.5}=0.818\log D+1.716$（$r=0.958$，$P<0.05$）

其中，Zc 为被子植物最大分布深度，D 为透明度。

19 世纪 70 年代，滇池外海水体透明度最高为 2 m，由回归方程式 1 和 2，分别计算得到当时滇池水生植物理论最大分布深度为 3.24 和 3.85 m，而当时的调查结果显示，水深＞2 米的深水区基本无高等植物生长（Qu & Li，1983）。理论值与实际调查间的差异，也证明透明度并非导致滇池外海海菜花和其他水生植物迅速消亡的原因。

对于滇池外海的海菜花消亡，也有人认为与 1970—1971 年，以氟为主的工业废水排入滇池有关，甚至导致外海水生植物几乎全部灭绝，仅幸存于周围鱼塘和水沟等处（Qu & Li，1983）。但是，1979 年的滇池底泥沉积氟含量检测结果显示（Rao et al，1983），白鱼口、海口及西华街等湖湾中底泥氟含量较高（653~77 mg/kg），而呈贡、昆阳等湖湾中底泥氟含量低（22.8~1.0 mg/kg），底泥氟含量异质性也证明氟并未造成全湖性污染，因此，亦非造成滇池外海海菜花和其他水生植物消亡的首要原因。

我们对湖周渔民的访问显示，20 世纪 70 年代出生（现在~40 岁）的渔民已经没有在滇池见过海菜花经历，但都清楚记得滇池当时水质清澈的情景。在滇池进行的海菜花种植实验，也都是在Ⅳ～Ⅴ类水环境中进行，但仍获得了成功，且长势优良（Shu et al，2007）。作者 2007 年对滇池水生生物多样性的调查发现，在湖周晋宁县兴旺村紧邻滇池的一个废弃鱼塘中，仍存活有~50 株海菜花，也证明在滇池外海目前为Ⅴ类水的情况下，海菜花的自然种群依然能够存活。这些证据均显示，滇池湖体富营养化并非是导致海菜花从湖体消失的主要原因。

2.5 草鱼的放养

1969 年，滇池鱼产量一度达到了 6 160 t，比1941 年增加百倍之多。究其原因，除新式渔具推广及渔民数量上升外，主要在于自 1958 年起，每年向滇池投放大量鱼苗。在所投放的鱼苗中，草鱼占主导地位。例如：1958 年，滇池放流鱼苗 886 万尾，其中，绝大多数为草鱼（Gao et al，1990）。而滇池管理局的相关记录也显示，草鱼为 1969 年鱼产量增加的主要部分。根据当时放流鱼类数量推测，草鱼产量~5 000 t，按照草鱼饵料系数为 120 计算（鲜重）（Chen，1989），需消耗 6×10^5 t 水生植物。而滇池水生植物即使在 50 年代最繁盛的时期，也仅有 8.16×10^5 t（Xu et al，2006）。可见，滇池水生植物不足以长期支撑大规模草鱼放流后的生长。1969—1973 年，又向滇池放流草鱼鱼苗 1137 万尾，但 1973 年的鱼产量中，草鱼仅为 2 843 kg（Gao et al，1990），证明当时滇池湖内的水生植物已大规模减少，无法满足草鱼的营养和生长需求。

草鱼对水生植物具有摄食选择性，偏好蛋白质含量高的水生植物，且消化率最高（Chen，1989）。营养成分分析表明，海菜花的蛋白质含量（314 g/kg）高于苦草、轮叶黑藻等水生植物（Li，2009）,仅次于水芹，是草鱼喜爱的食物。2006 年，我们曾对草鱼摄食海菜花的能力进行了实验：在种植有 10 株（240 g/株）海菜花的围网中，放入 4 尾草鱼（300 g），第 2 天草鱼开始摄食海菜花，并有大量叶片漂浮于水面；至第 4 天，海菜花植株和叶片被全部吃光。Li（1985）在对滇池的调查中也提到一个现象，即在放养草鱼后，常见海菜花残叶浮于水面，与我们的实验观察的现象一致。上述结果显示：草鱼嗜好海菜花，自 1958 年起大量引进的草鱼是导致海菜花从滇池湖体消失的直接原因。

过量放养草鱼导致水生植物消亡，已有许多相关案例。例如，内蒙古岱海，1954 年开始人工放流，由于过量放流草鱼，湖内丰富的水草资源在数年内被破坏殆尽，草鱼饥不择食，甚至追食其他小鱼（Zhang et al，1997）。1972—1978 年，由于草鱼放养量的不合理，食草量大大超过了水生植物再生产量，致使武汉东湖汤林湖区水生植物减少，一些种类甚至濒于绝迹，对湖泊生态平衡造成了不良后果（Chen，1989）。我们在云南异龙湖的记录也显示，自 2009 年向湖中投放大量草鱼后，异龙湖中的水生植物完全消失，湖泊透明度下降，总磷、总氮迅速上升。这些案例均间接印证了滇池中海菜花消亡主要由过量引进草鱼所致。

2.6 围湖造田

1970 年前后，昆明市开展了大规模围湖造田活动，其中草海围垦 16.63 km^2，外海围垦 7.62 km^2。外海围湖造田主要发生于沿岸湖湾，而湖湾是海菜花和水生植物生长的最优场所，被围垦后，湖湾内的水生植物也即随之消失（Zhang et al，1985）。值得注意的是，外海被围垦湖湾仅占海菜花和水生植物分布区域的小部分，虽不至于导致其从湖体彻底消失，但对海菜花和其他水生植物在沿岸带的恢复能力仍造成了一定损害（Li et al，2004）。

3 结 论

草鱼的引进是导致海菜花自 20 世纪 60—70 年代逐渐从滇池湖体消亡的直接和主要原因。在大量放养草鱼后，海菜花被优先且过度牧食而从湖体中消失，后期围湖造田和污染的加重，使得海菜花种群在草鱼数量减少后难以恢复。

致谢：前期实验和调查得到中国科学院昆明动物研究所崔桂华、李原的帮助；审稿人对文章提出了宝贵的意见，一并表示衷心感谢。

参考文献：

Chambers PA, Kaiff J. 1985. Depth distribution and biomass of submersed aquatic macrophyte communities in relation to Secchi depth. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, **42** (4): 701-709.

Chen HD. 1989. Impact of aquaculture on the ecosystem the Donghu lake, Wuhan. *Acta Hydrobiologica Sinica*, **13** (4): 359-368. [陈洪达. 1989. 养鱼对武汉东湖生态系的影响. 水生生物学报, **13** (4): 359-368.]

Dai Q Y. 1985. The ecology characteristics of the aquatic vegetation in the lakes Fuxianhu, Erhai and Dianchi in Yunnan plateau. *Acta Ecologica Sinica*, 5 (4): 324-335. [戴全裕. 1985. 云南抚仙湖、洱海、滇池水生植被特征. 生态学报, 5 (4): 324-335.]

Duan JS, He JC, Liu ZH. 1983. Natural conditions of Dianchi Lake.*In*: Research group of Pollution and Hydrobiology in Dianchi Lake. Pollution and Hydrobiology in Dianchi Lake. Kunming: Yunnan People's Publishing House, 1-6. [段金书, 何纪昌, 刘振华. 1983. 滇池的自然概况. 见: 《滇池污染与水生生物》研究课题协作组. 滇池污染与水生生物. 昆明:云南人民出版社, 1-6.]

Gao LC, Zhuang DD, Guo QZ, Wang YH. 1990. Fishery Resources of

Lakes in Yunnan Plateau. Nanjing: Jiangsu Science and Technology Press. [高礼存, 庄大栋, 郭起治, 王幼槐. 1990. 云南湖泊鱼类资源. 南京:江苏科学技术出版社.]

Ley SH, Yu Mk, Li KC, Tseng CM, Chen CY, Kao PY, Huang FC. 1963. Limnological survey of the lakes of Yunnan plateau. *Oceanologia et Limnologia Sinica*, **5** (2): 87-114. [黎尚豪, 俞敏娟, 李光正, 曾继绵, 陈嘉佑, 高宝云, 黄宏金. 1963. 云南高原湖泊调查. 海洋与湖沼, **5** (2): 87-114.]

Li H. 1981. Classification, distribution and phylogeny of the genus *Ottelia*. *Acta Phytotaxonomica Sinica*, **19** (1): 29-42. [李恒. 1981. 海菜花属的分类、地理分布和系统发育. 植物分类学报, **19** (1): 29-42.]

Li H. 1985. The flourishing and declining of *Ottelia acuminata* in the lake Dian Chi. *Journal of Yunnan University: Natural Sciences*, **7** (Supplement) :138-142. [李恒. 1985. 滇池海菜花的盛衰. 云南大学学报: 自然科学版, **7** (增刊): 138-142.]

Li WC, Liu ZW, Hu YH, Chen KN, Wu QL, Pan JZ. 2004. Studies and demonstration engineering on ecological restoration technique in the littoral zone of Dianchi Lake: The State and cause of environmental depravation and ecological degradation. *Journal of Lake Sciences*, **16** (4): 305-311. [李文朝, 刘正文, 胡耀辉, 吴庆龙, 陈开宁, 盘继征. 2004. 滇池东北部沿岸带生态修复技术研究及工程示范-环境恶化、生态退化现状及其成因. 湖泊科学, **16** (4): 305-311.]

Li Y, Yang JX, Cui GH, Shu SS. 2009. Analysis of the nutritional composition of *Ottelia acuminata* (Gagnep.) Dandy (Hydrocharitaceae) . *Acta Nutrimenta Sinica*, **31** (1): 96-97. [李原, 杨君兴, 崔桂华, 舒树森. 2009. 海菜花营养成分初步分析. 营养学报, **31** (1): 96-97.]

Peng QY. 2002. Shrimps in Dianchi lake. *Reservoir Fisheries*, **22** (2): 33-34. [彭琼英. 2002. 滇池虾类. 水利渔业, **22** (2): 33-34.]

Qiu DR, Wu ZB. 1998. Ecological studies on aquatic macrophytes in lake Donghu of Wuhan — III Feasibility for rehabilitation of submerged macrophytes in the lake. *Resources and Environment in the Yangtze Basin*, **7** (1): 42-48. [邱东茹, 吴振斌. 1998. 武汉东湖水生植物生态学研究——III沉水植被重建的可行性研究. 长江流域资源与环境, **7** (1): 42-48.]

Qu ZX, Li H. 1983. Macrophyte population and pollution in Dianchi Lake. *In*: Research Group of Pollution and Hydrobiology in Dianchi Lake. Pollution and Hydrobiology in Dianchi Lake. Kunming: Yunnan People's Publishing House, 7-16. [曲仲湘, 李恒. 1983. 滇池植物群落和污染. 见:《滇池污染与水生生物》研究课题协作组. 滇池污染与水生生物. 昆明: 云南人民出版社, 7-16.]

Rao XW, Li YC, Yang YM, Guan XH. 1983. Preliminary Report on F pollution in Dianchi Basin. *In*: Research Group of Pollution and Hydrobiology in Dianchi Lake. Pollution and Hydrobiology in Dianchi Lake. Kunming: Yunnan People's Publishing House, 88-95. [饶晓文, 李怡春, 杨毓明, 官翕华. 1983. 滇池水系氟污染的初步研究. 见:《滇池污染与水生生物》研究课题协作组. 滇池污染与水生生物. 昆明:云南人民出版社, 88-95.]

Shu SS, Yang JX, Cui GH, Li Y. 2007. Preliminary report on replanting techniques of *Ottelia acuminata* in the eastern swamps of Dianchi Lake. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, **35** (29): 9240-9241. [舒树森, 杨君兴, 崔桂华, 李原. 2007. 滇池东岸湿地回植海菜花技术初探. 安徽农业科学, **35** (29): 9240-9241.]

Wang B. 2011. Preferred species of water purification-Ottelia acuminate. *Garden*, (8): 60-61. [王斌. 2011. 净化水质的优选物种——海菜花. 园林, (8): 60-61.]

Xu QJ, Jin XC, Yan CZ. 2006. Macrophyte degradation status and countermeasures in China. *Ecology and Environment*, **15** (5): 1126-1130. [许秋瑾, 金相灿, 颜昌宙. 2006. 中国湖泊水生植被退化现状与对策. 生态环境, **15** (5): 1126-1130.]

Yu GY, Liu YD, Qiu CQ, Xu XQ. 2000. Macrophyte succession in Dianchi lake and Relations with the environment. *Journal of Lake Sciences*, **12** (1): 73-80. [余国营, 刘永定, 丘昌强, 徐小清. 2000. 滇池水生植被演替及其与水环境变化关系. 湖泊科学, **12** (1) :73-80.]

Zhang JF, Yang Q, Gao QY, Li HW, Li H, Wang XY, Duan JS, Zhang XC, Lü YB, Zhang XM, Li YQ. 1987. The comprehensive ecological consequences by irrational exploitation and use in Dianchi lake. *In*: The Ecological Consequences of Lakes by Irrational Exploitation and Use in Yunnan Plateau Research Group. The Ecological Problems and Consequences of Four Lakes in Yunnan Plateau. Kunming:Yunnan Science and Technology Press, 21-71. [张静芳, 杨璪, 高青云, 李宏文, 李恒, 王修勇, 段金书, 张喜春, 吕云波, 张秀敏, 李跃青. 1987. 滇池资源不合理开发利用的综合生态后果. 见:《云南高原湖泊资源不合理开发利用的生态后果调研》课题组. 云南高原“四湖”的生态问题与生态后果. 昆明: 云南科技出版社, 21-71.]

Zhang GH, Cao WX, Chen YY. 1997. Effects of fish stocking on lake ecosystems in China. *Acta Hydrobiologica Sinica*, **21** (3): 271-280. [张国华, 曹文宣, 陈宜瑜. 1997. 湖泊放养渔业对我国湖泊生态系统的影响. 水生生物学报, **21** (3): 271-280.]

动 物 学 研 究 2013，Dec. 34（6）：636−639 CN 53-1040/Q ISSN 0254-5853
Zoological Research DOI:10.11813/j.issn.0254-5853.2013.6.0636

滇池金线鲃（*Sinocyclocheilus grahami*）与抚仙金线鲃（*S. tingi*）肌肉营养成分初步分析

赵亚鹏[1,2]，潘晓赋[1]，杨君兴[1,*]，陈小勇[1,*]，李再云[1]，王晓爱[1,2]

1. 中国科学院昆明动物研究所 遗传资源与进化国家重点实验室，云南 昆明 650223;
2. 中国科学院大学，北京 100049

摘要：该文对滇池金线鲃（*Sinocyclocheilus grahami*）和抚仙金线鲃（*S. tingi*）肌肉营养成分的分析表明：两者肌肉（鲜样）中的蛋白质含量分别为 21.7%和 20.6%，粗脂肪含量分别为 3.43%和 2.66%，氨基酸总量分别为 19.23%和 17.67%。其中，必需氨基酸含量分别为其各自氨基酸总量的 44.08％及 43.69％，必需氨基酸指数则分别为 70.00%和 65.99％。两者的氨基酸构成比例基本符合 FAO / WHO 标准，且第一限制性氨基酸均为蛋氨酸+胱氨酸。对于矿物质含量而言，滇池金线鲃 K、Na 含量均高于抚仙金线鲃，Zn 含量低于抚仙金线鲃，而其他矿物质含量则无显著差异。该结果表明，滇池金线鲃和抚仙金线鲃肌肉均为优质食品，且前者的营养品质更优。

关键词：滇池金线鲃；抚仙金线鲃；营养成分
中图分类号：Q959.46[+]8 **文献标志码**：A **文章编号**：0254-5853-(2013)06-0636-04

Analysis of the nutritional components in muscle of *Sinocyclocheilus grahami* and *S. tingi*

Ya-Peng ZHAO[1,2], Xiao-Fu PAN[1], Jun-Xing YANG[1,*], Xiao-Yong CHEN[1,*], Zai-Yun LI[1], Xiao-Ai WANG[1,2]

1. *State Key Laboratory of Genetic Resources and Evolution, Kunming Institute of Zoology, Chinese Academy of Sciences, Kunming,* 650223 *China*
2. *University of Chinese Academy of Sciences, Beijing,* 100049, *China*

Abstract: In this study, we investigated the nutritive composition in the muscle of *Sinocyclocheilus grahami* and *S. tingi*. The contents of crude protein in the fresh muscle of *S. grahami* and *S. tingi* can be described as being 21.7% and 20.6%, crude fat were 3.43% and 2.66%, and total amino acid were 19.23% and 17.67%, respectively. Essential amino acids accounted for 44.08% and 43.69% of total amino acids of *S. grahami* and *S. tingi*, respectively. The values of essential amino acid index (EAAI) of the two species were 70.00% and 65.99%, respectively, with *S. grahami* being better than *S. tingi*. Ultimately, the amino acid composition of *S. grahami* and *S. tingi* muscle tissue met the standards of the Food and Agriculture Organization of the United Nations as well as those of the World Health Organization (FAO/WHO). According to the nutritive evaluation in amino acid score (AAS), the first limited amino acids of both fish were cystine+methionine. Compared with other commercial fish, the nutrition value of the muscle of *Sinocyclocheilus* fish can generally be considered as being better.

Keywords: *Sinocyclocheilus grahami*; *Sinocyclocheilus tingi*; Nutritional Components

滇池金线鲃（*Sinocyclocheilus grahami*）与抚仙金线鲃（*Sinocyclocheilus tingi*）同属鲤形目（Cypriniformes）鲤科（Cyprinidae）金线鲃属（Sinocyclocheilus）。滇池金线鲃分布于滇池及其周边的龙潭和入湖河流，为滇池流域特有种，曾是产区重要的经济鱼种，为云南四大名鱼（滇池金线鲃、鱇鲌白鱼、大理裂腹鱼、大头鲤）之一。20 世纪 80 年代以来，滇池水质恶化、滥捕酷渔及生物入侵等原因导致滇池金线鲃数量急剧下降（Chen et al，2001），当前价格为~500 元/kg。2007 年，滇池金线

收稿日期：2013-03-04；接受日期：2013-05-04
基金项目：全球环境基金会/世界银行项目（GEF-MSP grant No. TF051795）；云南省发展和改革委员会项目；中国科学院西部之光（292006312D11033）； 云南省应用基础研究面上项目（2012FB183）
[*]通信作者（Corresponding author），E-mail: yangjx@mail.kiz.ac.cn; chenxy@mail.kiz.ac.cn

鲃人工繁殖成功（Yang et al, 2007），商业开发前景广阔。抚仙金线鲃仅分布于抚仙湖及周边龙潭，为抚仙湖特有种，其形态及价格均与滇池金线鲃相似，且由于外来种引入和过度捕捞等原因，抚仙金线鲃种群同样衰退严重，而其人工繁殖亦已获得成功（Pan et al, 2009）。目前，金线鲃属鱼类的肌肉营养成分分析仅见于尖头金线鲃（*S. oxycephalus*）和大头金线鲃（*S. macrocephalus*）（Li et al, 1995）。本研究测定了滇池金线鲃和抚仙金线鲃的肌肉营养成分，对其营养价值进行评价，旨在为这两种云南名优土著品种的开发利用提供参考依据。

1　材料与方法

1.1　材　料

实验材料均来自于中国科学院昆明动物研究所珍稀鱼类保育研究基地，二龄滇池金线鲃及抚仙金线鲃各 5 条。取每尾鱼身体两侧自头盖骨至尾鳍前的全部肌肉，剪碎后，混匀备用。

1.2　肌肉各成分测定方法

水分：直接干燥法，参照 GB/T5009.3-2003；蛋白质：微量凯氏定氮，参照 GB/T5009.5-2010；氨基酸：酸水解法，参照 GB/T5009.124-2003（酸水解中，色氨酸遭破坏）；脂肪：索氏抽提法，参照 GB/T5009.6-2010；磷、钾、钠、钙、镁、铁及锌等矿质元素：干法消化，参照 GB/T 5009.14-2003、GB/T5009.87-2003、GB/T5009.90-2003、GB/T5009.91-2003 及 GB/T5009.92-2003。

1.3　氨基酸评价方法

根据 FAO/WHO 于 1973 年建议的氨基酸评分标准模式（%，dry）和全鸡蛋蛋白质模式（%，dry）进行营养价值评价。采用以下公式计算氨基酸评分（AAS）、化学评分（CS）和必需氨基酸指数（EAAI），对滇池金线鲃及抚仙金线鲃进行氨基酸评价。

$$\mathrm{AAS}=aa/AA_{(\mathrm{FAO/WHO})}$$

$$\mathrm{CS}=aa/AA_{(\mathrm{gee})}$$

$$\mathrm{EAAI}=\sqrt[n]{\frac{100\mathrm{A}}{\mathrm{AE}}\times\frac{100\mathrm{B}}{\mathrm{BE}}\times\frac{100\mathrm{C}}{\mathrm{CE}}\times\cdots\cdots\times\frac{100\mathrm{H}}{\mathrm{HE}}}$$

式中，aa 为试验样品氨基酸含量，$AA_{(\mathrm{FAO/WHO})}$ 为 FAO/WHO 评分标准模式中同种氨基酸含量，$AA_{(\mathrm{gee})}$ 为全鸡蛋蛋白质中同种氨基酸的含量，A、B、C、⋯及 H 为肌肉蛋白质必需氨基酸含量，AE、BE、CE、⋯及 HE 为全鸡蛋蛋白质必需氨基酸含量。

2　结　果

2.1　粗蛋白和粗脂肪

滇池金线鲃肌肉鲜样中的水分、粗蛋白及粗脂肪含量分别为 75.1%、21.7%及 3.43%，抚仙金线鲃肌肉鲜样中的水分、粗蛋白及粗脂肪含量分别为 75.9%、20.6%及 2.66%。滇池金线鲃的粗蛋白和粗脂肪含量高于抚仙金线鲃。

表 1　滇池金线鲃及抚仙金线鲃的粗蛋白和粗脂肪含量

Table 1　Crude protein and crude fat in muscle of *S. grahami* and *S. tingi* (fresh%)

种类 Species	水分 Water (%)	粗蛋白 Crude Protein (%)	粗脂肪 Crude Pat (%)
滇池金线鲃 *S. grahami*	75.1	21.7	3.43
抚仙金线鲃 *S. tingi*	75.9	20.6	2.66

2.2　氨基酸组成

于滇池金线鲃及抚仙金线鲃中共分别检测出16种及15种氨基酸（表2），其中，滇池金线鲃的氨基酸总量及必需氨基酸分别为鲜重的19.23%及8.48%，EAA/TAA值和EAA/NEAA值分别为44.08%及

表 2　滇池金线鲃及抚仙金线鲃肌肉氨基酸组成

Table 2　Amino acids composition of *S. grahami* and *S. tingi* (fresh%)

氨基酸 Amino acids	滇池金线鲃 *S. grahami*（%）	抚仙金线鲃 *S. tingi*（%）
天门冬氨酸 ASP	2.08	1.96
苏氨酸 THR	0.91	0.82
丝氨酸 SER	0.82	0.80
谷氨酸 GLU	2.94	2.82
甘氨酸 GLY	0.90	0.84
丙氨酸 ALA	1.26	1.26
胱氨酸 CYS	0.13	未检出
缬氨酸 VAL	1.09	0.99
蛋氨酸 MET	0.42	0.55
异亮氨酸 ILE	1.08	0.97
亮氨酸 LEU	1.80	1.56
酪氨酸 TYR	0.62	0.59
苯丙氨酸 PHE	1.01	0.93
赖氨酸 LYS	2.17	1.90
组氨酸 HIS	0.70	0.68
精氨酸 ARG	1.29	1.00
必需氨基酸总量 TAA	8.48	7.72
氨基酸总量 TAA	19.23	17.67
必需氨基酸/总氨基酸量 EAA/TAA	44.08	43.69
必需氨基酸/非必需氨基酸 EAA/NEAA	78.84	77.59

78.84%。抚仙金线鲃的氨基酸总量及必需氨基酸分别为鲜重的 17.67%及 7.72%， EAA/TAA 值和EAA/NEAA 值分别为 43.69%及 77.59%。其次为赖氨酸和天门冬氨酸，含量最低的是胱氨酸。除蛋氨酸和丙氨酸外，滇池金线鲃各氨基酸含量均高于抚仙金线鲃。

2.3 氨基酸评价

滇池金线鲃和抚仙金线鲃营养价值评价（表 3）显示，两者的各必需氨基酸含量无显著差异，除蛋氨酸+胱氨酸外，滇池金线鲃的各必需氨基酸含量均略高于抚仙金线鲃。赖氨酸含量最高，分别占各自干重的 8.72%及 7.88%；其次是亮氨酸，分别占各自干重的 7.21%及 6.47%；含量最低的均为蛋氨酸+胱氨酸，分别占各自干重的 2.18%及 2.28%。两者的必需氨基酸指数分别为 70.00 及 65.99，除蛋氨酸+胱氨酸外，各必需氨基酸的氨基酸评分均≥1，化学评分均＞0.5。其中，评分最高的均为赖氨酸，氨基酸评分分别为 1.59 和 1.43，化学评分分别为 1.36 和 1.23，评分最低的为蛋氨酸+胱氨酸，氨基酸评分分别为 0.62 和 0.65，化学评分分别为 0.4 和 0.42。

表 3 滇池金线鲃和抚仙金线鲃肌肉蛋白氨基酸评价

Table 3 Nutritive evaluation of amino acids of *S. grahami* and *S. tingi* (dry%)

必需氨基酸 Essential amino acid	滇池金线鲃 *S. grahami*			抚仙金线鲃 *S. tingi*		
	Content 含量（%）	AAS	CS	Content 含量（%）	AAS	CS
苏氨酸 THR	3.65	0.91	0.73	3.4	0.85	0.68
缬氨酸 VAL	4.39	0.88	0.59	4.11	0.82	0.55
异亮氨酸 ILE	4.33	1.08	0.66	4.02	1.01	0.61
亮氨酸 LEU	7.21	1.03	0.82	6.47	0.92	0.74
赖氨酸 LYS	8.72	1.59	1.36	7.88	1.43	1.23
蛋氨酸 MET+胱氨酸 CYS	2.18	0.62	0.4	2.28	0.65	0.42
苯丙氨酸 PHE+酪氨酸 TYR	6.57	1.1	0.65	6.31	1.05	0.63
必需氨基酸指数 EAAI		70.00			65.99	

2.4 矿物质含量

滇池金线鲃及抚仙金线鲃肌肉鲜样中含有多种人体必需的常量和微量元素（表4）。滇池金线鲃K、Na含量分别为434和41.8 mg/100 g，均高于抚仙金线鲃的356和21.6 mg/100 g，Zn含量则低于抚仙金线鲃，而Ca、P、Mg及Fe 含量两者无显著差异。

表 4 滇池金线鲃与抚仙金线鲃矿物质含量

Table 4 Element contents in muscles of *S. grahami* and *S tingi*

(Fresh, mg/100 g)

	Ca	P	K	Na	Mg	Fe	Zn
滇池金线鲃 *S. grahami*	39.2	368	434	41.8	46.0	0.924	0.758
抚仙金线鲃 *S. tingi*	38.8	364	356	21.6	36.0	0.941	0.930

3 讨 论

与同属尖头金线鲃和大头金线鲃（Li et al, 1995）相比，滇池金线鲃和抚仙金线鲃粗蛋白含量均介于尖头金线鲃（22.7%）及大头金线鲃（19.9%）之间，而粗脂肪则均低于尖头金线鲃（6.16%）和大头金线鲃（4.65%）。与其他常见经济鱼种相比，滇池金线鲃的粗蛋白及粗脂肪含量均高于草鱼（*Ctenopharyngodon idella*）（15.9% & 0.62%）、鳙鱼（*Hypophthalmichthys nobilis*）（16.3% & 3.04%）、鲤鱼（*Cyprinus carpio*）（17.68% & 2.06%）（Liu, 1990）及尼罗罗非鱼（*Tilapia nilotica*）（15.4% & 1.75%）（Hao, 2007）等，抚仙金线鲃的粗蛋白含量亦高于这 4 种经济鱼种，粗脂肪含量则低于鳙鱼，而高于草鱼、鲤鱼及尼罗罗非鱼。因此，就粗蛋白和粗脂肪含量而言，金线鲃属鱼类的常见经济鱼类具有更高的营养价值。

滇池金线鲃和抚仙金线鲃肌肉中的必需氨基酸含量较高，其 EAA/TAA 值和 EAA/NEAA 值均超过了 WHO/FAO 所建议的 40%及 60%的理想蛋白模式。两者的必需氨基酸指数均高于尖头金线鲃（55.81）、大头金线鲃（62.16）、草鱼（60.59）及鳙鱼（60.87），且蛋氨酸+胱氨酸及缬氨酸评分均较低，因此，两者肌肉蛋白中的第一、第二限制氨基酸均为蛋氨酸+胱氨酸及缬氨酸。

滇池金线鲃和抚仙金线鲃含有多种人体所需的常量和微量矿质元素。与草鱼及鳙鱼相比，两者的 P、

K、Mg 及 Fe 含量均较高，尤其是 P 含量，远远高于草鱼（302 mg/100 g）和鳙鱼（180 mg/100 g），而 Na 含量则均较低。两者 Ca 含量与草鱼（38 mg/100 g）无显著差异，但均明显低于鳙鱼（82 mg/100 g）。滇池金线鲃 Zn 含量与鳙鱼（0.76 mg/100 g）无显著差异，但均低于草鱼（0.87 mg/100 g），而抚仙金线鲃 Zn 含量则高于草鱼和鳙鱼（Liu, 1990）。

综上所述，滇池金线鲃和抚仙金线鲃均营养丰富，且就蛋白质含量、必需氨基酸含量及氨基酸评价而言，前者品质优于后者。两者均为云南特有鱼类，特别是滇池金线鲃作为云南四大名鱼之一，开发前景广阔。

参考文献：

Chen ZM, Yang JX, Su RF, Chen XY. 2001. Present status of the indigenous fishes in Dianchi Lake, Yunnan. *Biodiversity Science,* **9**（4）: 407-413. [陈自明, 杨君兴, 苏瑞凤, 陈小勇. 2001. 滇池土著鱼类现状. 生物多样性, **9**（4）: 407-413.]

Hao SX, Li LH, Yang XQ, Cen JW, Shi H, Diao SQ. 2007. Analysis and evaluation of nutrient composition of Tilapias. *Acta Nutrimenta Sinica,* **29**（6）: 614-618. [郝淑贤, 李来好, 杨贤庆, 岑剑伟, 石红, 刁石强. 2007. 5 种罗非鱼营养成分分析及评价. 营养学报, **29**（6）: 614-618.]

Li WX, Wu DF, Chen AL, Xu ZH. 1995. Analysis of nutrient composition of 2 *Sinocyclocheilus in* Yunnan. *Chinese Journal of Fisheries,* **8**（2）: 86-87. [李维贤, 武德方, 陈爱玲, 徐忠华. 1995. 云南两种金线鲃的营养成份. 水产学杂志, **8**（2）: 86-87.]

Liu JK. 1990. Ecology Research of Lake Donghu（Part 1）. Beijing: Science Press, 307-311. [刘建康. 东湖生态学研究（一）. 北京: 科学出版社, 307-311.]

Pan XF, Liu SW, Yang JX, Li ZY. 2009. Artificial propagation and larvae cultivation of *Sinocyclocheilus tingi*. *Zoological Research,* **30**（4）: 463-467. [潘晓赋, 刘淑伟, 杨君兴, 李再云. 2009. 抚仙金线鲃人工繁殖与鱼苗培育技术. 动物学研究, **30**（4）: 463-467.]

Yang JX, Pan XF, Li ZY. 2007. Preliminary report on the successful breeding of the endangered fish *Sinocyclocheilus grahami* endemic to Dianchi Lake. *Zoological Research,* **28**（3）: 329-331. [杨君兴, 潘晓赋, 李再云. 2007. 云南滇池濒危特有种滇池金线鲃人工繁殖初报. 动物学研究, **28**（3）: 329-331.]

动 物 学 研 究 2013，Dec. 34(6): 640−650 CN 53-1040/Q ISSN 0254-5853
Zoological Research DOI:10.11813/j.issn.0254-5853.2013.6.0640

常用系统发育树构建算法和软件鸟瞰

张丽娜[1]，荣昌鹤[2]，何 远[1]，关 琼[4]，何 彬[4]，朱兴文[1]，刘佳妮[4]，陈红菊[3,4,*]

1. 大理学院 数学与计算机学院，云南 大理 671003
2. 云南林业职业技术学院，云南 昆明 650224
3. 红河学院，云南 蒙自 661100
4. 中国科学院昆明动物研究所 遗传资源与进化国家重点实验室，计算生物学与医学生态学研究组，云南 昆明 650223

摘要：系统发育树又称进化树、生命树等，在达尔文的“进化论”一书中首次出现，之后系统发育树的重构被广大生物学家所接受。该文阐述了构建系统发育树的基本流程，对目前用于构建系统发育树的四类算法（距离法、最大简约法、最大似然法和贝叶斯法）进行了详细地分析和比较，并介绍了一些常用系统发育树构建和分析软件（PHYLIP、MEGA、MrBayes）的特点。

关键词：系统发育树；距离矩阵法；最大简约法；最大似然法；贝叶斯算法；系统发育分析软件
中图分类号：Q332 **文献标志码**：A **文章编号**：0254-5853-(2013)06-0640-11

A bird’s eye view of the algorithms and software packages for reconstructing phylogenetic trees

Li-Na ZHANG[1], Chang-He RONG[2], Yuan HE[1], Qiong GUAN[4], Bin HE[4], Xing-Wen ZHU[1], Jia-Ni LIU[4], Hong-Ju CHEN[3,4,*]

1. *Mathematics and Computer Science College*, *Dali University*, *Dali Yunnan* 671003, *China*
2. *Yunnan Forestry Technological College*, *Kunming Yunnan* 650224, *China*
3. *College of Mathematics*, *Honghe University*, *Mengzi Yunnan* 661100, *China*
4. *Computational Biology and Medical Ecology Lab*, *State Key Laboratory of Genetic Resources and Evolution*, *Kunming Institute of Zoology*, *Chinese Academy of Sciences*, *Kunming Yunnan* 650223, *China*

Abstract: The prototype phylogenetic tree, i.e., evolutionary “tree” or “tree of life”, was first conceived by Charles Darwin in his seminal book “The Origin of Species”, and its reconstructions have been approached by generations of biologists ever since. In this article, we briefly reviewed the major algorithms and software packages for reconstructing phylogenetic trees. Specifically we discuss four categories of phylogeny algorithms including distance-matrix, maximum parsimony, maximum likelihood, and Bayesian framework, as well as software packages (PHYLIP, MEGA, MrBayes) based on them.

Keywords: Phylogenetic tree; Distance matrix; Maximum parsimony; Maximum likelihood; Bayesian framework; Phylogenetic analysis software.

系统发育就是指生物谱系的分支演化历史，或是指生命自起源后的整个遗传进化史 （Avise，2006），系统发育树是描述物种间或操作分类单元间（operation taxonomic units，OTUs）系统发育关系的图论模型。操作分类单元可以是现存物种、基因、基因组或者是任何其他可操作单元。系统发育树的构建就是从现存物种和古生物学记录存留的证据来重现生命进化史的科学探索。用伟大的进化生物学家 Dobzhansky（1973）的名言“如果没有进化论，生物学的一切便毫无意义”来强调系统发育树的重要性是恰如其分的。

由于技术限制，最初分类学家只能依靠生物的

收稿日期：2013-08-16；接受日期：2013-11-07
基金项目：遗传资源与进化国家重点实验室 “开放课题”(项目名称：利用生存分析改进系统发育树和溯祖树构建的准确性和可靠性，项目编号：GREKF11-11)
*通信作者(Corresponding author)，E-mail: chenhongju_teacher@hotmail.com

形态特征来推断物种间的亲缘关系。但表型特征存在一定的局限性，由于趋同进化现象，有时候亲缘关系很远的生物体也表现出很大的相似性，如鲸和蝙蝠，虽然形态差异很大，但都具有发达的高频回声定位能力。同时，许多生物个体可能由于体型较小，数量多而导致对其表型特征的研究较困难，如各类微生物。另外许多生物体间的共同特征少之又少，很难发现何种表型特征能用来研究比较。随着分子生物学研究的不断发展和检测核苷酸序列和各种氨基酸序列技术的成熟，使得从小分子层面上构建系统发育树成为可能。近年来测序技术的迅猛发展，使得测序成本降低，涌现的海量核酸序列、氨基酸序列数据也被收集于如 GenBank、EMBL 和 DDBJ 等大型数据库中，促使人们可从更大范围上建立物种间的遗传进化关系。分子水平的进化研究具有传统方法不可比拟的优势，可从核酸和氨基酸序列差异程度来精确判断物种进化的时期和速度，确定亲缘关系极远的生物体间的进化关系，同时能对体型较小的微生物间的进化关系进行深入研究。

目前许多系统发育树构建算法都是从解决最优化问题出发，如最大简约法、最大似然法等，但是这些方法受物种数量严格限制，当物种数量较多时，构建系统发育树是一个典型的 NP-complete 难题 （Foulds & Graham，1982）。这意味着在多项式时间内不能被计算机求解，只能被非确定机求解；不能得到绝对数值解，只能通过比较相对解来确定最合适的答案。然而庆幸的是人们后来发明了改进算法：启发式搜索算法，通过分割数据集 （操作单元）变成小的子集，再对小的子集使用最优化算法 （最大似然或最大简约算法等）求出每个子集对应的最优树，然后合并每个子集得到的最优树，最终形成整个数据集的最优树。

随着生物信息学的发展，使用计算机技术处理系统发育树成为不可或缺的理论，构建系统发育树的软件包的相继出现，并得到了广泛的应用。对构建进化树程序包的算法、运用限制条件及其优缺点的了解，有助于我们选用合适的建树方法和分析软件，更进一步说，为我们对现有方法的改进和编写性能更完善的软件提供思想源泉和帮助。

1　构建系统发育树的一般过程

不同的领域对树有不同的定义，下面简单列举了部分树的定义及生物信息中与系统发育树相关的基本术语。

树（图论中定义）：连通的无环图称为树。度为 1 的叫叶子节点，度大于等于 1 的为根节点，节点间的连线叫树枝。

树（数据结构中定义）：由一个集合以及在该集合上定义的一种非线性结构关系。

树（生物信息中定义）：表示物种之间的进化关系的树状图谱。由树枝和节点组成。节点分为内部节点和外部节点，内部节点代表的是进化事件发生的位置或进化过程中的共同祖先，外部节点又叫叶子节点，代表的是不同物种或是可操作单元。树枝是连接各节点的边，树枝长度代表的是生物进化时间或进化距离。叶子节点的度为 1，内部节点的度至少为 3。如图 1a 所示，节点 A−D 为叶子节点，节点 1、2 为内部节点，节点 0 为根节点。根据拓扑结构的不同系统发育树可以分为有根树和无根树。有根树（图 1a）有一个根节点，代表所有其他节点的共同祖先，从根节点只有唯一路径经进化到达其他任何节点；无根树（图 1b）只表明了节点之间的关系，没有进化方向，但是通过引入外群或外部参考物种可以在无根树中指派根节点（Gregory，2008）。

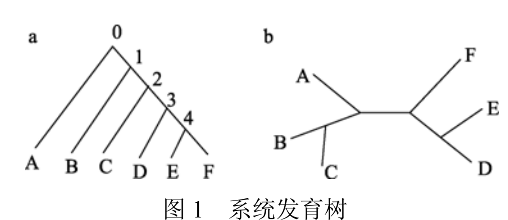


图 1　系统发育树

Figure 1　Phylogenetic tree

a：有根树；b：无根树。 a: Rooted tree; b: Unrooted tree.

构建系统发育树包括选择同源序列、序列比对、计算推断进化树、评估进化树四个步骤。具体流程如图 2 所示。

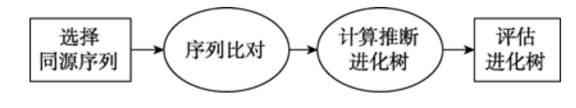


图 2　构建系统发育树流程图

Figure 2　Phylogenetic tree flowchart

构建系统发育树的第一步是选择同源序列作为计算数据。这一步实际上包含两个过程：一是收集序列数据，二是确定数据的同源性。序列数据可以通过实验或通过公共数据库下载获得。目前公共数据库主要有美国的 GenBank、欧洲的 EMBL、

日本的 DDBJ 等。

序列比对提供一种衡量核酸或蛋白质序列之间相关性的度量方法。将两条或多条序列写成两行或多行，使尽可能多的相同字符出现在同一列中，将不同序列中的每一位点进行逐一比对，构建一个打分矩阵来表示序列间的相似性或同源性。DNA 序列在进化中由于替换、插入/删除、突变事件使其发生改变，所以在比对中，错配与突变相应，而空位与插入或缺失对应。最常用的比对工具有 Blast（Altschul et al，1990）、Clustal（Larkin et al，2007）、 Muscle（Edgar，2004）和 FASTA（Lipman & Pearson，1985）等。

计算推断系统发育树的主要任务是求出最优树的拓扑结构和估计分支长度。这部分算法及常用软件在后面详细介绍。

评估的目的是对已经得出的系统发育树的置信度进行评估，常用的方法有自举检验法 （bootstrap methods）（Felsenstein，1985；Penny & Hendy，1985）及刀切法 （jackknife methods）（Shao & Tu，1996）。自举检验法是从原始序列中随机选取碱基组成和原始序列相同长度的新序列，这样在每个序列中有些碱基被重复选择，而有些碱基未被选择，按这样的方法取出和原始数据序列数相同的新序列组成新的组。将所有的新序列组用某种算法生成多个新的进化树。将生成的许多进化树进行比较，把所有新的树中相同拓扑结构最多的树认为是最真实的树，树中分支位置的数值表示该种结构占所有树中的百分比值，该值小于 75 通常都认为是置信度较低的分支。刀切法是对原始数据进行“不放回式”随机抽取，从数据集里去除一部分序列数据或每次去掉一个分类群对象，然后对剩下的数据进行系统发育分析。刀切法产生的数据小于原始数据，（delete-half-jackknifing）（Felsenstein，1985；Wu，1986）。两类检测方法的差别在于，前者是对全部数据进行“重置式”随机抽取，数据抽到的概率是相等的，且建立的和原始数据大小相等，而后者是“不放回式”抽取，产生的数据小于原始数据。

2 构建系统发育树常用算法原理

基于分子水平的系统发育推断方法可以分为两大类，即基于离散特征的方法和基于距离的方法。基于离散特征的系统发育树重构算法通过搜索各种可能的树，从中选出最能够解释物种之间进化关系的系统发育关系树，这类方法利用统计技术定义一个最优化标准，对树的优劣进行评价，包括最大简约法（maximum parsimony methods）（Mount，2008）、最大似然法 （maximum likelihood methods）（Myung，2003）和贝叶斯法（Bayesian methods）（Holder & Lewis，2003）。距离法的理论基础是最小进化原理（minimum evolution，ME）（Saitou & Nei，1986），这类方法首先构造一个距离矩阵来表示每两个物种之间的进化距离，然后基于这个距离矩阵，采用聚类算法对研究的物种进行分类。通过不断的合并距离最小的两个节点和构建新的距离矩阵，最终得出进化树。距离法包括非加权组平均（unweighted pair-group method with arithmetic mean，UPGMA）、邻接法 （neighbor- joining，NJ）、距离变换法（transformed distance method）和邻接关系法（neighbors relation method）等（Takezaki，1998）。非加权组平均法比较简单，得出的系统发育树不可加和，现在很少使用，常用邻接法来构建系统发育树。表 1 列出了常用构建系统发育树的算法及支持软件。

2.1 邻接法

Kidd & Sgaramelh-Zonta（1971）最早提出基于距离数据的系统发育树重构算法，从所有可能的进化树中选择进化分支长度总和最小的那棵树，距离法通常不能找到精确的最小进化树，只能找到近似的最小进化树，但是它的计算速度非常快，而且准确率较高，因此被广泛应用于系统发育分析（Zhang & Lai，2010）。当可操作单元数量较多时，这种方法的计算量会大增，因此，又提出了启发式搜索算法（Mucherino & Seref，2009）：从一个距离矩阵开始，采用一定的准则，递归地合并矩阵中距离最短的节点，并重构新的距离矩阵，直到只剩下最后一个分类单元为止。其中最常用的是邻接法（Saitou & Nei，1986）。下面举例说明邻接法重建系统发育树的过程。假设有以下 5 组同源序列：

*S*1: GTGCTGCACGGCTCAGTATAGCATTTACCCTTCCATCTTCAGATCCTGAA

S2: ACGCTGCACGGCTCAGTGCGGTGCTTACCCTCCCATCTTCAGATCCTGAA

S3: GTGCTGCACGGCTCGGCGCAGCATTTACCCTCCCATCTTCAGATCCTATC

S4: GTATCACACGACTCAGCGCAGCATTTGCCCTCCCGTCTTCAGATCCTAAA

S5: GTATCACATAGCTCAGCGCAGCATTTGCCCTCCCGTCTTCAGATCTAAAA

表 1　系统发育树常用算法及支持软件

Table 1　Frequently-used algorithms and software for phylogeny reconstruction (http://evolution.genetics.washington.edu/ phylip/software.html)

方法 Methods	简介 Description	特点 Characteristics	支持软件 Supporting software
距离法 Distance methods	首先计算两两序列之间的距离矩阵，不断重复合并距离最短的两个序列，最终构出最优树。	属于距离矩阵法算法简单易懂，计算速度较快。	PHYLIP; PAUP*; MEGA; MacT; ODEN; MVSP; PAL; gmaes; DISPAN; GDA; TREECON; RESTSITE; TCS; NTSYSpc; METREE; SeqPup; PTP; PHYLTEST; Lintre; Phylo_win; DAMBE; Bionumerics; qclust; ARB; POPTREE2; Gambit; DENDRON; BIONJ; TFPGA; APE; Darwin; sendbs; nneighbor; weighbor; DNASIS; MINSPNET; Arlequin; PEBBLE; HY-PHY; Vanilla; GelCompar; Populations; Winboot; SYN-TAX; SplitsTree; FastME; MacVector; QuickTree
最大简约法 Maximum parsimony methods	此方法关键是找信息位点，由最多信息位点支持的那个树就是最大简约树。	不用计算序列之间的距离，大多数简约法的算法及程序比较成熟,要求对比序列相似性很大，否则推断出的系统发育树可信度低于 NJ 法和 ML 法。存在 NP -complete 问题。	Phylip; Paup*; Mega; PaupUp; Hennig86; RA; TCS; NONA; CAFCA; Phylo_win; sog; gmaes; LVB; GeneTree ARB; DAMBE; MALIGN POY; Gambit; TNT GelCompar II; Bionumerics Network; GAPars; CRANN
最大似然法 Maximum likelihood methods	完全基于统计的系统发生树重建方法。该法在每组序列比对中考虑了每个核苷酸替换的概率。概率总和最大的那棵树最有可能是最真实的系统发生树。	计算复杂,当数据量大时被认为是 NP complete 问题。另外由于对进化了解不全加上计算复杂使得所用的进化模型不能反映序列真实进化情况。	PHYLIP; PAUP*（rat），fastDNAml; MOLPHY; PAML; Spectrum; SplitsTree; TREE-PUZZLE; SeqPup; Phylo_win; PASSML; ARB; Darwin; Modeltest; DAMBE; PAL; dnarates; HY-PHY; Vanilla; p4; Mac5;DT-ModSel; Bionumerics; fastDNAmlRev; RevDNArates; rate-evolution; CONSEL; EDIBLE; PLATO; Mesquite; PTP; Treefinder; MetaPIGA; RAxML; PHYML; r8s-bootstrap; MrMTgui; MrModeltest; BootPHYML; PARBOOT; Porn*; SIMMAP; Spectronet; Rhino; TipDate; ProtTest; ModelGenerator; Simplot; MrAIC; Modelfit; IQPNNI; PARAT; ALIFRITZ; PhyNav; DPRML; MultiPhyl; NimbleTree; PaupUp; SSA; CoMET; BIRCH; Kakusan4; GARLI; PHYSIG; SEMPHY; FASTML; Rate4Site; aLRT; McRate; EREM; PROCOV; DART; PhyloCoCo; PRAP; SeqState; Leaphy; NHML; SLR; rRNA phylogeny; Bosque; Concaterpillar; PHYLLAB; NEPAL; EMBOSS; CodeAxe; phangorn; Bio++; FastTree; nhPhyML; PhyML-Multi; Segminator; raxmlGUI; MixtureTree; SeaView; GZ-Gamma; Crux
贝叶斯法 Bayesian methods	和极大似然法相反，此方法在给定序列组成的条件下，计算进化树和进化模型的概率，常采用（MCMC）方法。	基于后验概率进行进化分析，建立在比对序列的条件下，进化树结构发生的条件概率。存在 NP-complete 问题。	BAMBE; PAL; Vanilla; MrBayes; Mesquite; PHASE; BEAST; MrBayes tree scanners; p4; SIMMAP; IMa2; BAli-Phy; BayesPhylogenies; MrBayesPlugin; PhyloBayes; PHASE; Cadence; Multidivtime; BEST; AMBIORE; PHYLLAB; bms_runner; tracer; burntrees Bio++; Crux; ANC-GENE

*代表商业软件。

*Refers to the commercial software.

以上 5 个序列中每个序列都含有 50 个碱基，每两个序列之间的距离定义为失配碱基的个数（这里忽略删除和插入事件）。则每次聚类可得出距离矩阵如表 2、3、4 所示。根据公式 1

$$Q_{ij} = (n-2)d_{ij} - \sum_{k=1}^{n} d_{1k} - \sum_{k=1}^{n} d_{2k} \qquad (1)$$

求出 Q 值。公式中 n 为物种个数或序列个数，在 n 个序列组成的所有可能的无根树中找出 Q 值最小的两个序列组成邻近关系，重新构建距离矩阵，根据新的距离矩阵再找最小的 Q 值组成一组，反复上面的过程直到所有的序列都找到了自己的邻居（Studier & Keppler，1988）。根据表 2、3、4 求出所有的 Q 值，见表 5。

表 2　序列间距离矩阵

Table 2　Pairwise distance matrix

序列 Sequence	*S1*	*S2*	*S3*	*S4*
S2	9			
S3	8	11		
S4	12	15	10	
S5	15	18	13	5

S1、*S2*、*S3*、*S4*、*S5* 为核苷酸或氨基酸序列。

S1, S2, S3, S4, S5 refer to Nucleotide and amino acid sequences.

由表 5 可推断出 5 条序列的系统发育树拓扑图和各分支长度分别如图 3 和图 4 所示：

表 3 第一次聚类得到的距离矩阵

Table 3 Distance matrix after the first clustering

序列 Sequence	*S1*	*S2*	*S3*
S2	9		
S3	8	11	
S45	13.5	16.5	11.5

S1、*S2*、*S3*、*S45* 为核苷酸或氨基酸序列。

S1, S2, S3, S45 refer to Nucleotide and amino acid sequences.

表 4 第二次聚类得到的距离矩阵

Table 4 Distance matrix after the second clustering

序列 Sequence	*S12*	*S3*
S3	9.5	
S45	15	11.5

S12、*S3*、*S45* 为建树核苷酸或氨基酸序列。

S12, S3, S45 refer to nucleotide and amino acid sequences.

表 5 Studier J 和 Keppler K 方法得到的 Q 值表

Table 5 Q value from Studier J and Keppler K

第一轮 First round	第二轮 Second round	第三轮 Third round
*Q*12=–70	*Q*12=–40	*Q*（12）3=–37
*Q*13=–59	*Q*13=–37	*Q*（12）（45）=–6
*Q*14=–50	*Q*1（45）=–31.5	*Q*3（45）=–16.5
*Q*15=–46	*Q*23=–34	
*Q*23=–62	*Q*2（45）=–28.5	
*Q*24=–50	*Q*3（45）=–37.5	
*Q*25=–50		
*Q*34=–56		
*Q*35=–56		
*Q*45=–78		
最小 *Q*45	最小 *Q*12	最小 *Q*（12）3

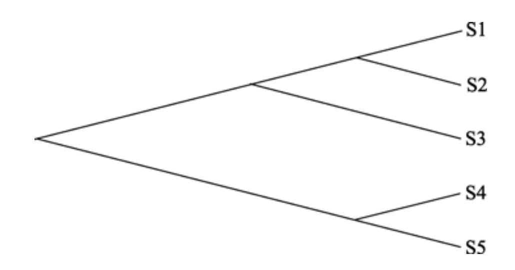


图 3 NJ 算法得到的系统发育树拓扑图

Figure 3 Topology of Phylogenetic Tree with NJ Approach

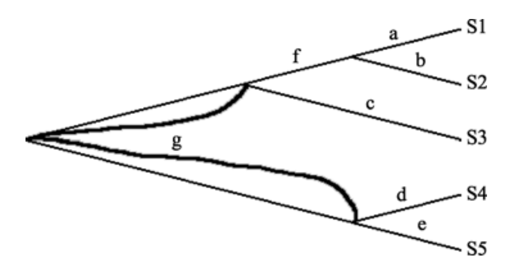


图 4 估计各分支长度

Figure 4 Branch-Length Estimation

随后的研究在邻接法基础上又提出了很多改进算法：Studier & Keppler（1988）提出的改进算法，引入了线性数组的概念，大幅降低了计算的时间复杂度（Chen et al，2006）；Bruno et al（2000）提出了加权邻接法（weighted neighbor-joining）算法、Gascuel（1997）提出了 BIONJ 算法、Desper & Gascuel（2012）提出的 FASTME 算法和 Criscuolo & Gascuel（2008）提出了快速邻接法算法，均缩短了建立系统发育树的时间。距离法速度快，适合于大型数据集和自举分析,允许不同序列间有不同的分支长度,允许多重替换，但当序列差异很大时，转换成距离矩阵会使序列信息减少，而且距离法只提供一棵可能的树，并对模型的依赖比较强烈。

2.2 最大简约法

最大简约法是基于奥卡姆剃刀原则 （Occam's razor）而发展起来的一种进化树重构的方法，即突变越少的进化关系就越有可能是物种之间的真实的进化关系，系统发生突变越少得到的系统发生结论就越可信（Sober，1988）。最大简约法首先是由 Camin & Sokal（1965)提出来的，经过 Hein（1990，1993）的研究发展使得用最大简约法来建立进化树得到极大的发展及应用。

最大简约法采用 5 个假设 （Felsenstein，1978，1979，1981a,b)：（1）序列中的每个位点独立进化；（2）不同世系（lineage）独立进化；（3）序列上的位点（碱基或氨基酸）的替换概率小于该分枝系统发生时间的长度；（4）系统发生的不同分支改变有不同，但高变化率的分支和低变化率的分支间的变化大小不会相差很大；（5）位点间变化不会相差太大。一个位点的删除和插入各算一个变化，当然连续的删除 *N* 个位点，应该算作独立的 *N* 个事件。

用简约法推断系统发生关系，首先判断信息位点。信息位点是那些产生突变能把其中的一棵树同其他树区别开来的位点。如果一个位点是信息位点，那么该位点至少有两种以上的核苷酸，并且每种核苷酸至少出现两次（见表 6)。简约法中只考虑信息位点而不考虑非信息位点。

其次确定每棵树的替换数目 （Fitch，1971)。这里以 3 棵树为例来说明构建过程，如图 5。要确定每棵树的替换数目，就要从 5 个已知的外部节点上的核苷酸推断出 4 个内部节点上最可能的核苷酸。寻找内部节点的算法如下：如果一个内部节点的两个直接后代节点上的核苷酸的交集为非空，

表 6　4 条同源序列的比对
Table 6　4 Homology sequences alignment

	位置 Site					
序列 Sequence	1	2	3	4	5*	6*
1	C	G	A	C	G	A
2	C	G	A	C	G	T
3	C	G	A	C	A	A
4	C	T	G	A	A	T

*标注为信息位点，其余 4 个位点为非信息位点。
*Refers to informative site, remaining four sites are Non-informative site.

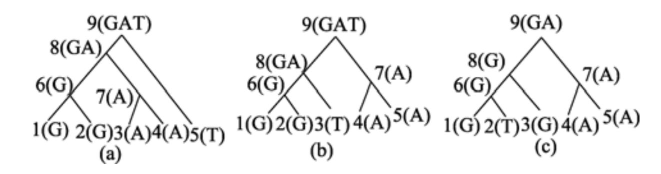


图 5　3 棵有根树及内部节点
Figure 5　Three rooted trees and internal nodes

那么这个节点的最可能的候选核苷酸就是这个交集；否则为它的两个后代节点上核苷酸的并集。当一个并集成为一个节点的核苷酸集时，通向该节点的分支的某个位置必定发生一个核苷酸替换。故而并集中核苷酸的数目也是生成外部节点上的核苷酸的最小替换数，外部节点从它们的共同祖先出发，通过这些替换，形成当前的核苷酸状态。找好内部节点后，即可计算该内部节点后代的替换数。计算信息位点的替换数，是通过计算外部节点上不同核苷酸的数目减去 1 即可得到。考虑所有可能的树，分别对每棵树中的变化打分，统计每个位点的核苷酸最小替换数目，所有信息位点替换数的总和最小的树即为最简约树。

随着序列数量的增加，可能的树的拓扑结构呈现爆炸性增加（如 10 个物种，存在 34 459425 棵可能的无根树[$(2n-5)!!=\frac{(2n-4)!}{(n-2)!2^{n-2}}$ ）]，遍历这些可能的树的拓扑结构，计算出最小替换数而找到最简约树，无疑计算量是相当庞大的。对序列数据集较多的建树，一般选用分支约束算法（branch-and-bound algorithm）（Land & Doig，1960）和启发式算法（heuristic algorithm）（Mucherino & Seref，2009）进行树的拓扑结构查找。

分支约束算法查找的树，首先是从只有两个物种组成的树开始（如果是无根树，从3个物种的树开始）；其次程序试着在合适的位置增加下一个物种，并对增加物种后的树进行替换数目的评价，迭代直到将所有的物种都加到树上。它是一个深度优先搜寻的过程（depth-first search）（Even & Even，2011）。首先把第三个物种加在第一个可能的位置，这时第四个物种加在它的第一个可能的位置，再次是第五个物种，依次遍历直到树的第一个可能的树产生。对树的步数进行衡量。改变物种的位置，直到遍历所有的位置。四棵树的深度优先搜寻的过程如下：

首先建立两个物种的树：（A,B）
把C加到第一个可能的位置：（（A,B）,C）
把D加到第一个可能的位置：（（（A,D）,B）,C）
把D加到第二个可能的位置：（（A,（B,D））,C）
把D加到第三个可能的位置：（（（A,B）,D）,C）
把D加到第四个可能的位置：（（A,B）,（C,D））
把D加到第五个可能的位置：（（（A,B）,C）,D）
把C加到第二个可能的位置：（（A,C）,B）
把D加到第一个可能的位置：（（（A,D）,C）,B）
把D加到第二个可能的位置：（（A,（C,D））,B）
把D加到第三个可能的位置：（（（A,C）,D）,B）
把D加到第四个可能的位置：（（A,C）,（B,D））
把D加到第五个位置：（（（A,C）,B）,D）
把C加到第三个可能的位置：（A,（B,C））
把D加到第一个可能的位置：（（A,D）,（B,C））
把D加到第二个可能的位置：（A,（（B,D）,C））
把D加到第三个可能的位置：（A,（B,（C,D）））
把D加到第四个可能的位置：（A,（（B,C）,D））
把D加到第五个可能的位置：（（A,（B,C））,D）

如上所示，深度优先搜寻也只不过是另外一种一次产生所有可能的树的算法。即使物种数量中等，生成的可能树的数量也是非常大的。当然这种情况实际中是不会发生的，因为树会以一个特定的顺序生成，一些可能树的拓扑结构是不会产生的。分支约束算法也是由这些深度优先搜索步骤组成，只不过有一点改变，在树的构建过程中，部分树如（A,（B,C））的步数也被衡量。增加物种，预测会增加的步数，取增加步数的位置为增加的物种所在位置。分支约束算法会计算增加物种后不变的位点数量和变化的位点数量。因而如果 A、B 和C 及根有20个可变的位点，且如果树（（A,C）,B）要求 24 步，当 D 增加有 8 个可变位点，那么，无论 D 加到哪个位置，最终的树都不会少于 32 步。如果发现树（（A,B），（C,D））仅仅只有 30 步，那么我们就可以确定

((A,C) ,B) 上没有位置可以让 D 加上。分支约束算法会保留一个最简约树列表，这样就可以砍掉一部分，从而避免一些可能的特定的树的分支生成。因而分支约束算法能让我们不必生成所有可能的树而又能得到最简约的树，从而减少计算时间。

启发式搜索算法通过子树分支交换 (branch swapping)，把分支嫁接到此步分析中找到的最好的那棵树的其他位置，而产生一棵拓扑结构和初始树相似的树 (见图 6)。

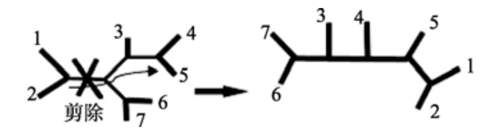


图 6 启发式搜索剪除与嫁接
Figure 6 Pruning and grafting of heuristic search

对于有 7 条序列的启发式搜索在第一轮会产生上百棵新树，计算突变数总和，其中比初始树突变数更少的新树被保留并在第二轮分析中被剪除和嫁接。重复这个过程，直到无法再产生比前一轮总突变数更少的树，则此树为最简约树。启发式搜索能大大减少查找的可能树的数量，从而解决对大量数据搜索树的数量过大的问题。

最大简约法可能会产生多棵简约树，此时通常选取一棵能概括这些简约树的一致树（consensus tree）作为代表（Taylor et al，2011）。这种做法是将所有树中都一致的分支点作为二叉分支点，不一致的分支点变为连接多个分支的内部节点（如图 7)。

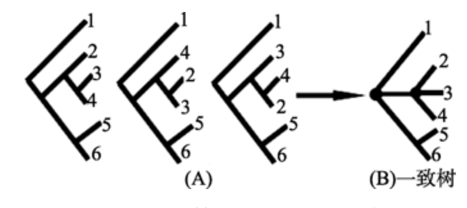


图 7 三个简约树对应的一致树
Figure 7 Consensus tree form three MP trees

2.3 最大似然估计法

一般来讲，如果模型合适，最大似然法的效果较好。最大似然法根据特定的 “替代模型” (substitution model) 分析既定的一组序列数据，使所获得的每一个拓扑结构的似然值最大。选出最大似然值最大的拓扑结构作为最优系统树。其分析的核心在于替代模型，常用的有 Jukes-Cantor 模型 (Jukes & Cantor，1969)，Kimura 双参数模型 (Kimura，1980) 等。算法要求所有分类单元有完整的 DNA 序列数据 (如果有缺失则不计算)，在运算过程中仅考虑碱基取代而忽略缺失/插入，算法相对费时。

在最大似然算法中，考虑拓扑结构和枝长两个参数，并对似然率求最大值来估计枝长。算法基于统计特性，有很好的数学理论支持。在进化速率可变的假设下，最大简约法略差于转换距离法和邻接法的结果，最大似然法的结果最优 (Zhong et al，2001)。也就是说极大似然算法允许各分支进化速率不同。极大似然算法原理如下：似然函数：给定进化模型 M，模型的 K 个参数，进化树拓扑结构，枝长，当前序列出现的可能性：$L=P(D|M,\theta,\tau,\upsilon)$

如何取这些参数，使得该序列出现的可能性最大，即：$\hat{\theta},\hat{\tau},\hat{\nu}=\max_{\theta,\tau,\nu} L(\theta,\tau,\nu)$。有 4 个 DNA 序列 w、x、y、z，如图 7 所示；4 个序列可能的拓扑结构如图 9 所示，其拓扑共有 3 种（以图 8 中椭圆包含的碱基序列（第 6 列）为例)，TTAG 序列可能的进化通路如图 9 所示，图形为有根树。

Sequence W: A C G C G T T G G G
Sequence X: A C G C G T T G G C
Sequence Y: A C G C A A T G A A
Sequence Z: A C A C G G T G A A

图 8 4 个 DNA 序列
Figure 8 Four DNA sequences

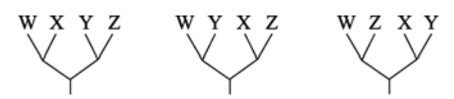


图 9 4 个 DNA 序列可能的拓扑结构
Figure 9 All possible trees come from four DNA sequences

因为有 3 个节点，每个节点可能的值是 ATGC，所以有 $4^3=64$ 个通路。

L（第 6 列）= SUM L (所有可能的进化路径)
= L（路径 1）+ L（路径 2）+ L（路径 3）+ … + L（路径 64）

图 10 中节点 1、2、3、4 为叶子节点，5、6 为内部节点，0 为根节点，v_i 为枝长，是进化树的参数，参数的值由似然函数通过观察到的序列来估计。节点 K 的似然函数：

$$L_k = g_{x0}P_{x0x5}(v_5)P_{x5x1}(v_1)P_{x5x2}(v_2)P_{x0x6}(v_6)P_{x6x3}(v_3)P_{x6x4}(v_4) \quad (1)$$

其中g_{x0}表示节点 0 为核苷酸$\boldsymbol{x}_0$时的先验概率，常常等于核苷酸在整个序列中的相对频率，它可以用 *ML* 法来估计。P_{ij}（*v*）为给定位点在时间0时的核苷酸 *i* 到时间 *t* 变为核苷酸 *j* 的概率，*i*、*j* 指 *A*、*T*、*G*、*C* 的任一种，在*ML*算法中允许各分支的替代速率 *r* 不同，用 $v_i = r_i t_i$ 来表示第 *i* 个分支的预期替代数。计算 P_{ij}（*v*）需要使用特定的替换模型。Felsenstein（Felsenstein，1981a）使用了等输入模型。在此模型中 P_{ii}（*v*）和 P_{ij}（*v*）为：

$$p_{ij}(v) = g_i + (1-g_i)e^{-v}, (i=j) \quad (2)$$

$$p_{ij}(v) = g_j(1-e^{-v}), (i \neq j) \quad (3)$$

当 g_i=1/4，v=4rt 时，上述模型演变为 Jukes-Cantor 模型。针对不同类型的数据选择合适的模型可以增加准确度。以上过程分析了有根树的算法，如果使用一个可逆模型，即不论向前还是向后进化核苷酸的替代过程不变。用数学表述为：

$$g_i P_{ij}(v) = g_j P_{ji}(v) \quad (4)$$

这样节点 5 和 6 之间的核苷酸替代数（v_5+v_6）恒定而与根节点 0 的位置无关。计算 L_k 时，指定图 10 的 v_5+v_6 为 v_5，并假设进化开始于该树的某一点，为方便起见，假定从节点 5 开始，大大简化了树的复杂度，具体如图 11 所示。这样 1 就可以简化为：

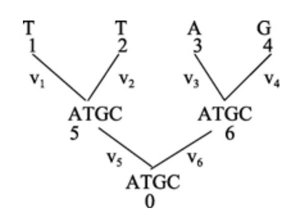


图 10 TTAG 可能的进化通路图

Figure 10 The evolutionary pathway of TTAG

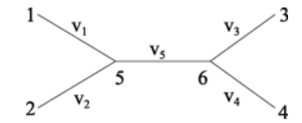


图 11 有根树转为无根树

Figure 11 Rooted tree into a unrooted tree

$$L_k = g_{x5}P_{x5x1}(v_1)P_{x5x2}(v_2)P_{x5x6}(v_5)P_{x6x3}(v_3)P_{x6x4}(v_4) \quad (5)$$

到此我们只考虑了一个核苷酸位点，在整个建树过程中我们必须考虑包括不变位点在内的所有核苷酸位点。整个序列的似然率 *L* 是对所有位点的 L_k 求积，整个树的似然率对数为：

$$\ln L = \sum_{k=1}^{n} \ln L_k \quad (6)$$

通过改变参数 V_i，使 *lnL* 最大化，计算方法可以使用 Newton 方法或其他数值计算方法实现。最后选出似然值最大的拓扑结构作为最优系统树。

2.4 贝叶斯算法

基于统计学规律运作的算法还有贝叶斯算法，与极大似然估计算法不同的是，后者指定树的结构和进化模型，计算序列组成的概率，从而推断出对应的进化树。前者正好相反，是由给定的序列组成，计算进化树和进化模型的概率。

$$P(T,\theta \mid D) = \frac{P(T,\theta) \times P(D \mid T,\theta)}{P(D)} \quad (7)$$

其中，$P(T,\theta)$ 为给定的树 T 和参数 θ 的先验概率/边缘概率，是不考虑序列时的概率。$P(T,\theta \mid D)$ 为给定序列下的后验概率，$P(D \mid T,\theta)$ 为给定的树 T 和参数 θ 的似然值，分母 $P(D)$ 是一正则化常数。该定理表明后验信息可由前验信息和碱

基序列信息所得（Yang & Rannala，2012）。具体原理如图 12 所示。

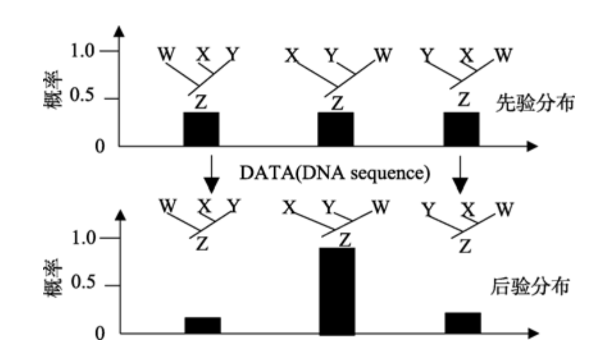


图 12 贝叶斯算法进化树原理图

Figure 12 Schematic of phylogenetic tree from Bayesian algorithm

开始不知道树的概率，先假设每棵树的可能性都是相等的，将 DNA 序列信息和进化模型代入贝叶斯公式计算每棵树的可能性，取概率最大者为最

后的进化树。图 12 的拓扑中（X,（Y,W））的进化树概率最大，所以为最后的进化树。每个系统树的拓扑结构分布在不同区间；每棵树的位置受到拓扑结构及枝长的影响 （Sanmartín et al，2008）。对系统发生问题，难以得到各概率的解析解，现有的解决办法主要是 MCMC （Markov chain monte carlo sampling）方法。将进化树（拓扑结构与进化模型参数）转换为马尔科夫链，待马尔科夫链收敛于后验概率分布即可。

2.5 系统发育树重建常用的软件包介绍

目前有很多软件包可以进行系统发生树推断及可靠性检验，还有像Unifrac和ITOL（interactive tree of life）等在线画树和分析树的工具。网站 http://evolution.genetics.washington.edu/phylip/software.html 列出了150多种相关软件包，并可以对软件进行按类别查询，如按软件的运行系统、使用的算法等进行查询，对软件进行简单介绍同时提供了下载的链接。具体使用时可按需求用不同的软件，这里简单介绍3种最常用的软件。

2.5.1 PHYLIP

PHYLIP （phylogeny inference package）是由美国华盛顿大学 Felsenstein 用 C 语言编写的系统发生推断软件包,它提供免费的源代码，支持 Windows 和 Linux 等多种系统。在 3.69 版本中，由 35 个子程序组成，可以实现最大似然法、最大简约法和距离法建树。最大似然法有两类程序：带生物钟的建树子程序（dnamlk、promlk），可对进化似然距离进行估计；不带生物钟建树程序 （dnaml、proml）。最大简约法也有带分子钟建树子程序（dnapennys），可以对进化距离进行估计；和不带生物钟的建树子程序（dnapars、protpars）。距离法建树由 dnadist、prodist、fitch、kitsch、neighbor 等子程序组成，dnadist 和 prodist 可实现 F84、Kimura、Jukes-Cantor、LogDet 模型计算距离矩阵，fitch 子程序可实现不带分子钟的 Fitch-Margoliash 法画树，而 neighbor 子程序带有邻接法和非加权组平均法两种画树方法。每种建树方法都带有各自许多不同的选项供研究人员根据自己研究的目的进行选择优化。软件包带有画树的子程序：可以画三角形有根树及矩形有根树（drawgram），也可以画无根树（drawtree）。子程序 seqboot 使用自举检验法或刀切法对构建的树进行标准误估计及可靠性检验，提供分析报告。此程序包还可以实现一致树的构建（consensus），以及树的重构（retree）等等。唯一不方便的是该程序包基于命令行形式，操作界面不够友好。

2.5.2 MEGA

MEGA （ molecular evolutionary genetics analysis）是由美国宾夕法尼亚州立大学Masatoshi Nei 等编写的进行分子进化遗传分析的软件包。目前最新的版本为 5.0。它能对核酸序列及氨基酸序列进行系统发生分析。在建树方法上,提供了距离法中的非加权组平均和邻接法及 MP 法，5.0 版本还提供了最大似然法算法，对构建的树可进行自举检验及标准误估计的可靠性检验，并提供分析报告。该软件不仅可以对本地序列文件进行分析，而且可Web在线搜索分析，可以分析 NCBI 数据库中的序列文件来重建进化树。该软件可画出矩形、三角形、圆形等多种形状的系统发育树。

2.5.3 MrBayes

MrBayes （Bayesian inference of phylogeny）是由 John Huelsenbeck 等编写，使用马尔可夫链方法来估计参数模型的后验概率分布。该软件采用命令行形式，支持 Windows 和 UNIX 等多种系统，能够处理核苷酸、氨基酸、限制性酶切位点和形态数据等多种数据，同时集成了多物种溯祖算法，支持正向、负向和总线形拓扑结构，支持 BEAGLE 数据库，在使用兼容的硬件（NVIDIA 图形卡）条件下可以提高运行速度。表 7 列出了常用的建树软件及其特点。

当序列间的分歧度不高，且序列足够长时，邻接法、最大简约法和最大似然法得到的进化树往往具有相似的拓扑结构 （Saitou & Imanishi，1989）。当序列之间的分歧度比较高，将 DNA 序列转为距离矩阵时往往会丢失一些信息 （Penny，1982）。而距离法的性能依赖于距离矩阵的质量，因此，距离法只能当序列满足某些条件时才会有较高的准确性。简约法不依赖任何进化模型，但进化树的简约计分完全决定于重建祖先序列中的最小突变数，而突变是否按照事先约定的核苷酸最少替代途径进行是不得而知的。再者，所有分支的突变数不可能相同。由于没有考虑核苷酸的突变过程，使得长分支末端的序列由于趋同进化而显示较好的相似性，导致对“长枝吸引” （Holder & Lewis，2003）的敏感。因此，当序列分歧度较高时，最大简约法极可能得出错误的拓扑结构。最大简约法只适用于

表 7　常用软件及其特点

Table 7　Frequently-used software and characteristic

软件 Software	网址 Website	特点 Characteristic
Phylip	http://evolution.genetics.washington.edu/phylip.html	支持多种系统。借助 Clustalx 软件进行序列比对，借助 Treeview 软件查看进化树拓扑图
MEGA	http://www.megasoftware.net/	图形界面，MP 算法较好的软件，支持自动和手动序列比对，输入序列可以为本地的文本文件也可以从 NCBI 数据中搜索。可以将进化树表示成圆形、矩形等不同形状。4.0 以下版本没有 ML 算法，4.0 版本以后可以提供分析报告
MrBayes	http://mrbayes.sourceforge.net/	只支持贝叶斯方法建树，命令行形式，对机器内存和处理速度要求很高，计算速度较慢
Paup	http://paup.csit.fsu.edu/	收费软件，MP 算法最好
Phyml	http://atgc.lirmm.fr/phyml/	用 ML 算法建树最快
Network	http://www.fluxus-engineering.com/sharenet.htm	可以产生进化树和网络，并能估计祖先的年龄
Pebble	http://www.cebl.auckland.ac.nz/software2.php	用 ML 和最小二乘法构建系统发育树，溯祖模型。
Tree-puzzle	http://www.tree-puzzle.de/	ML 算法建树，要求序列集小于 257，否则产生溢出，用 QP（quarter puzzling）值对树进行评估，并可进一步分析所选数据的恰当性

序列相似性较高的序列建立进化树，其次，最大简约法在序列数据量较大的时候，建立进化树相当耗时（是个 NP-complete 问题）（Foulds & Graham, 1982）。最大似然法是一种建立在进化模型上的统计方法，具有统计一致性、健壮性，能够在一个统计框架内比较不同的树以及充分利用原始数据等优点 （Bryant & Galtier，2005）。但它与邻接法一样需要选择模型，一般选择 Kimura-2 参数模型。但对于不同模型会得出不同的结果，算法相对比较耗时，适用于序列不是很多的情况。贝叶斯法因为后验概率不仅涉及所有的树， 而且对于每一棵树还整合了枝长和替代模型参数值的所有可能组合，所以不可能采用常规的分析方法解决。所幸的是，一系列数值方法可用于近似地获取后验概率，其中最有用的就是马尔可夫链·蒙特卡罗算法。其基本思想是建立马尔可夫链，以替代模型参数作为状态空间，其静态分布就是参数的后验概率分布。通过计算机模拟和抽样技术获得分支格局的后验概率。同以往的最大似然法相比，贝叶斯推论的优越性在于：能够以很高的计算速度处理大型数据集，同时还使用后验概率衡量树的置信度 （Huelsenbeck & Ronquist，2001）。

3　总　结

近年人们在构建系统发育树方面已经取得了很大进展，构建系统发育树的算法和软件也一直在不断完善。通过对生物系统发生分析重建进化树，使人们更进一步了解了生命进化的历史。但构建系统发育树是一个复杂的任务，目前还没有哪一种算法能完全揭露真实的历史进化关系，同时现有算法存在的一些问题：如“长枝吸引”、非匀速分子钟的修正、搜索算法的优化等还有待进一步解决。系统发育分析的算法和软件的不断完善将会在更多的研究领域得到应用，如在基因多序列比对、分子钟以及统计系统地理学分析的过程中（Yang & Rannala，2012）。

参考文献：

Altschul SF, GISH W, Miller W, Myers EW, Ipman DJ. 1990. Basic local alignment search Tool. *Journal of Molecular Biology,* **215**(3): 402-410.

Avise J. 2006. Evolutionary Pathways in Nature: A Phylogenetic Approach. New York: Cambridge University Press.

Bruno W J, Socd N D, Halpern AL. 2000. Weighted neighbor joining: a likelihood-based approach to distance-based phylogeny reconstruction. *Molecular Biology and Evolution,* **17**(1): 189-197.

Bryant D, Galtier N, Poursat MA. 2005. Mathematics of Evolution and Phylogeny: Likelihood Calculation in Molecular Phylogeny. Oxford: Oxford University Press USA.

Camin J H, Sokal R R. 1965. A method for deducing branching sequences in phylogeny. *Evolution,* **19**(3): 311-326.

Chen NT, Wang NC, Shi BC. 2006. Fast algorithm for constructing neighbor-joining phylogenetie trees. *Journal of Southeast University,* **22**(2): 176-179.

Criscuolo A, Gascuel Q. 2008. Fast NJ-like algorithms to deal with incomplete distance matrices. *BMC Bioinformatics,* **9**(1): 166-18.

Desper R, Gascuel Q. 2002. Fast and accurate phylogeny reconstruction algorithms based on the Minimum-Evolution principle. *Journal of Computational Biology,* **9**(5): 687-705.

Dobzhansky T. 1973. Nothing in biology makes sense except in the light of evolution. The American Biology Teacher, 35: 125-129.

Edgar RC. 2004. MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. *Nucleic Acids Research,* **32**(5): 1792-1797.

Even S , Even G. 2011. Graph Algorithms. New York: Cambridge University Press, 46-48.

Felsenstein J. 1978. Cases in which parsimony or compatibility methods will be positively misleading. *Systematic Zoology*, 27(4):401-410.

Felsenstein J. 1979. Alternative methods of phylogenetic inference and their interrelationship. *Systematic Zoology,* **28**(1): 49-62.

Felsenstein J. 1981a. A likelihood approach to character weighting and what it tells us about parsimony and compatibility. *Biological Journal of the Linnean Society,* **16**(3): 183-196.

Felsenstein J. 1981b. Evolutionary trees from DNA sequences: a maximum likelihood approach. *Journal of Molecular Evolution,* **17**(6): 368-376.

Felsenstein J. 1985. Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evolution,* **39**(4): 783-791.

Fitch W. 1971. Toward defining the course of evolution: Minimum change for a specified tree topology. *Systematic Zoology*, 20: 406-416.

Foulds LR, Graham RL. 1982. The steiner tree problem in phylogeny is NP-complete. *Advances in Applied Mathematics,* **3**: 4-49.

Gascuel Q. 1997. BIONJ: an improved version of the NJ algorithm based on a simple model of sequence data. *Molecular Biology and Evolution,* **14**(7): 685-695.

Gregory TR. 2008. Understanding evolutionary trees. *Evolution: Education and Outreach,* **1**(2): 121-137.

Hein J. 1990. Reconstructing evolution of sequences subject to recombination using parsimony. *Mathematical Biosciences,* **98**(2): 185-200.

Hein J. 1993. A heuristic method to reconstruct the history of sequences subject to recombination. *Journal of Molecular Evolution,* **36**(4): 396-405.

Holder M, Lewis PO. 2003. Phylogeny estimation: traditional and bayesian approaches. *Nature,* **4**(4): 275-284.

Huelsenbeck JP, Ronquist F. 2001. MRBAYES: bayesian inference of phylogenetic trees. *Bioinfrmatics*, **17** (8):754-755.

Jukes TH, Cantor CR. 1969. Evolution of protein molecules. *In:* Mammalian Protein Metabolism. New York: Academic Press.

Kidd KK, Sgaramelh-Zonta LA. 1971. Phylogenetic Analysis: concepts and methods. *The American Journal of Human Genetics,* **23**(3): 235-252.

Kimura M. 1980. A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *Journal of Molecular Evolution,* **16**(2): 111-120.

Land AH, Doig AG. 1960. An automatic method of solving discrete programming problems. *Econometrica,* **28**(3): 497-520.

Larkin MA, Blackshields G, Brown NP, Chenna R, McGettigan PA, McWilliam H, Valentin F, Wallace IM, Wilm A,Lopez R, Thompson JD, Gibson TJ, Higgins DG. 2007. Clustal W and Clustal X version 2.0. *Bioinformatics*, **23**(21): 2947-2948.

Lipman DJ, Pearson WR. 1985. Rapid and sensitive protein similarity searches. *Science,* **227**(4693): 1435-1441.

Mount DW. 2008. Maximum parsimony method for phylogenetic prediction. Cold Spring Harbor Protocols, doi: 10.1101/pdb.top32.

Mucherino A, Seref O. 2009. Modeling and solving real-life global optimization problems with meta-heuristic methods. *Advances in Modeling Agricultural Systems,* **25**: 403-419.

Myung IJ. 2003. Tutorial on maximum likelihood estimation. *Journal of Mathematical Psychology,* **47**(1): 90-100.

Penny D. 1982. Towards a basis for classification: the incompleteness of distance measures, incompatibility analysis and phenetic classification. *Journal of Theoretical Biology,* **96**(2): 129-142.

Penny D, Hendy MD. 1985. The use of tree comparison metrics. *Systematic Zoology,* **34**(1): 75-82.

Saitou N, Nei M. 1986. The number of nucleotides required to determine the branching order of three species, with special reference to the human-chimpanzee-gorilla divergence. *Journal of Molecular Evolution,* **24**(1-2): 189-204.

Saitou N, Imanishi T. 1989. Relative efficiencies of the fitch-margoliash, maximum-parsimony, maximum-likelihood, minimum-evolution, and neighbor-joining methods of phylogenetic tree construction in obtaining the corrent tree. *Molecular Biology and Evolution,* **6**(5): 514-525.

Sanmartín I, van der Mark P, Ronquist F. 2008. Inferring dispersal: a Bayesian approach to phylogeny-based island biogeography, with special reference to the Canary Islands. *Journal of Biogeography,* **35**(3): 428-449.

Shao J, Tu DS. 1996. The Jackknife and Bootstrap. New York: Springer.

Studier JA, Keppler KJ. 1988. A note on the neighbor-joining algorithm of Saitou and Nei. *Molecular Biology and Evolution,* **5**(6): 729-731.

Sober E. 1988. Reconstructing the Past: Parsimony Evolution and Inference. London: Cambridge MIT Press.

Takezaki N. 1998. Tie trees generated by distance methods of phylogenetic reconstruction. *Molecular Biology and Evolution,* **15**(6): 727-737.

Taylor MP, Wedel MJ, Cifelli RL. 2011. A new sauropod dinosaur from the Lower Cretaceous Cedar Mountain Formation, Utah, USA. *Acta Palaeontologica Polonica,* **56**(1): 75-98.

Wu CFJ. 1986. Jackknife, bootstrap and other resampling methods in regression analysis. *The Annals of Statistics,* **14**(4): 1261-1295.

Yang ZH, Rannala B. 2012. Molecular phylogenetics: principles and practice. *Nature Reviews Genetics,* **13**(5): 303-314.

Zhang SB, Lai JH. 2010. Bioinformatics approach for molecular evolution research. *Computer Science,* **37**(8): 47-51. [张树波, 赖剑煌. 2010. 分子系统发育分析的生物信息学方法. 计算机科学, **37**(8): 47-51.]

Zhong Y, Zhao L, Zhao Q. 2001. An Introduction to Bioinformatics. Beijing: Higher Education Press. [钟扬, 赵亮, 赵琼. 2001. 简明生物信息学. 北京: 高等教育出版社.]

动 物 学 研 究 2013，Dec. 34(6): 651−658 CN 53-1040/Q ISSN 0254-5853
Zoological Research DOI:10.11813/j.issn.0254-5853.2013.6.0651

社会关系网络分析在行为生态学中的跨学科应用

张 鹏*

中山大学 人类学系，广东 广州 510275

摘要：社会关系网络分析（social network analysis，SNA）是综合运用图论、数学模型，来研究个体与个体、个体与其所处社会网络、以及一个社会网络与另一社会网络之间关系的研究方法。SNA 不仅仅是一套技术、而是一种关于关系网的方法论。该方法论认为每一个个体都不是独立的，而是通过信息、行为、空间分布、生态因素等连结共生。这让我们以全局视野理解一个动物群体，从两方关系、三方关系、个体与群体间关系、到动态网络模型等角度进行研究，为验证性行为与性选择理论、互惠与合作理论、信息流动与疾病传播理论、个体策略与种群选择理论、界定一个群、预测社会关系网络稳定性等行为生态学领域提供可靠的量化数据，极大地推动了行为生态学的发展。相对于国外的快速发展，SNA 在国内动物学研究中的应用仍十分有限。为此，该文结合作者对川金丝猴的研究结果，介绍了 SNA 的理论背景、概念、测量方法和应用领域，旨在推广 SNA 在我国行为生态学研究中的跨学科应用。

关键词：社会关系网络分析；图论；行为生态学；灵长类；跨学科应用
中图分类号：Q958.1 **文献标志码**：A **文章编号**：0254-5853-(2013)06-0651-15

Social network analysis of animal behavioral ecology: a cross-discipline approach

Peng ZHANG*

Department of Anthropology, Sun Yat-sen University , Guangzhou 510275, China

Abstract: Social network analysis (SNA) is a framework used to study the structure of societies. As an umbrella term that encompasses various tools of graph theory and mathematical models to visualize networks, SNA allows researchers to detect and quantify patterns in social networks. Within SNA, individuals are not independent, but are symbiotic or linked with one another in a network. Given its powerful analytical tools, SNA is capable of addressing a range of animal behaviors, and has accordingly become increasingly popular in behavioral ecology studies examining such notions as mate choice/sexual selection, cooperation, information flow and disease transition, behavioral strategies of individuals, fitness consequences of sociality and network stability. Nevertheless, SNA it relatively underutilized among Chinese behavioral ecologists. This study aims at highlighting the benefits of SNA in studying animal behaviors in order to promote greater utilization of SNA within Chinese studies. By first introducing social network theory and demonstrating how social networks can influence individual and collective behaviors, this paper provide a prospective overview of SNA's general utilization for the study of animal behavioral ecology as well as promising directions in the overall use of SNA.

Keywords: Social network analysis; Graph theory; Behavior ecology; Primate; Cross-discipline application

社会网络分析（social network analysis，SNA）是综合运用图论、数学模型来研究节点（node）与节点、节点与其所处社会网络（social network），以及一个社会网络与另一社会网络之间关系的一种结构分析方法。1954 年，人类学者巴恩斯首次提出了社会网络概念，并将这一概念用于对人类社会的研究（Barnes, 1954）。1998 年，数学家 Watts & Strongatzy 验证了著名的六度分离理论（six degrees of separation）[又叫小世界现象（small world phenomenon）]。指出地球上任何两个陌生人联系

收稿日期：2013-04-23；接受日期：2013-08-20
基金项目：国家自然科学基金（31270442, 31000175）；广东省千百十工程人才培养基金（2013）；深圳市城市管理局科研项目（2012-2016），Resona-Asia-Oceania Foundation, Japan（2012-2013）项目；中山大学人文高等研究院驻院学人计划
*通信作者（corresponding author），E-mail: zhangp99@mail.sysu.edu.cn
作者简介：张鹏（1978−），男，中山大学人类学系副教授，博士生导师，主要从事灵长类行为生态学研究

起来，其中经过的中间人均值为 6 个，也就是说，通过 6 个人你就能够认识任何一个陌生人（Watts & Strogatz, 1998）。近年来，关键词为社会网络的学术出版物快速增长，SNA 被广泛应用于社会学、人类学、行为学、经济学、组织研究、工商管理、公共卫生、信息科学、复杂理论和混沌理论等跨学科领域（reviewed by Knoke & Yang, 2008），并迅速从人文领域扩展到探索生物学、数学和物理学等领域（reviewed by Newman, 2003; Watts, 2003）。SNA 研究深刻地影响了人们对群体、个体及其社会关系的认识。

群体生物学与个体行为策略是行为生态学研究的核心内容之一。大量研究表明社会性动物（包括人类）的交往行为不是随机出现的，而反映了个体和环境相互影响的结果，并由此引起群体水平的变化 [e.g. 意蜂（*Apis mellifera*），Naug, 2008; 孔雀鱼（*Poecilia reticulate*），Morrell et al, 2008; 黄鼠（*Spermophilus colombianus*），Manno, 2008; 非洲象（*Loxodonta africana*），Wittemyer et al, 2005; 宽吻海豚（*Tursiops truncates*），Lusseau, 2003; 日本猴（*Macaca fuscata*），Koyama, 2003; 川金丝猴（*Rhinopiticus roxellana*）, Zhang et al, 2003]。那么，个体如何适应环境？社群结构如何受环境变化、疾病传播、信息传播和个体行为策略等因素的影响？解释这些问题首先需要深入了解研究对象的社会组织和关系网络。然而，传统动物社群组织的研究主要是提供种群数量、群体大小、群体组成、个体行为等信息，通过这些信息间接地反应群内社会关系（Reviewed by Sih et al，2009）。

20 世纪 60 年代以后，行为生态学者意识到社会网络理论在动物行为生态学中的应用价值。Sade（1965）最先使用手绘社会网络图的方法，描述了猕猴理毛行为的社会关系。随后，其他学者也陆续将社会网络理论用于研究动物社会行为，例如理毛行为（Seyfarth, 1976; Mitani, 1986）、接近行为（Fairbanks, 1980; Hanby, 1980; Seyfarth, 1980）、通讯行为（Mitani, 1986; Nakagawa, 1992）、交配行为（Cheney, 1978a）、攻击行为（Pearl & Schulman, 1983; Keverne, 1992）和玩耍行为（Cheney, 1978b; Pearl & Schulman, 1983）。个体间社会关系不仅会受交往双方的影响，还会受群内整体社会网络的影响。例如，猕猴群内最高地位雄性的死亡或消失会导致其他个体间甚至整个群内社会关系的变动（Sueur et al, 2010）。然而，以往手绘方式难以对所有成员间社会关系进行严格的量化分析。

SNA 通过综合运用图论、数学模型来研究个体与个体、个体与其所处社会网络，以及一个社会网络与另一社会网络之间关系（Borgatti et al, 2009）。它不仅可以精确测量和展现社会网络，而且可以从个体、亚群、群体和种群等不同层面来了解动物行为和社会关系，为理解行为与生态环境的相互作用提供可靠的量化数据，极大地推动了行为生态学的发展（Krause et al, 2007; Sih et al, 2009）。近 10 年来，随着社会网络理论的完善和计算机技术的提高，越来越多的学者将 SNA 应用于昆虫、鱼类、鸟类和哺乳类等研究中（表 1）。其中主要研究方向包括探究生态因素对群体社会结构或个体行为的影响（e.g. Croft et al, 2006），群体运动及决策的研究（e.g. Lusseau, 2003; Lusseau & Newman, 2004）和群体、个体特征及其两者关系的研究（e.g. Madden et al, 2009, 2011）。对非人灵长类的相关研究则更加深入，涉及黑猩猩属、狒狒属、狮尾狒属、仰鼻猴属、猕猴属、狐猴属、蛛猴属和松鼠猴属等（表 1），涉及不同相互作用的关系在群体中的分布、中心性特征以及群体结构特征等，也涉及对疾病或寄生虫传播以及社会学习等方面。相对于国外研究的快速发展，SNA 在国内动物学研究中的应用仍十分有限，仅限于对川金丝猴（Zhang et al, 2012）等个别灵长类的研究。为此，本文结合作者对川金丝猴的研究结果，介绍了 SNA 的理论背景、概念、测量方法和应用领域，旨在推广 SNA 技术在我国行为生态学研究中的跨学科应用。

1　什么是 SNA

社会网络是由单独的组成部分（节点）及其间的连结的集合。也可以说，一个社会网络是由多个节点和各节点之间的连线组成的集合。节点是一个关系网络的组成部分，也被称作是顶点（vertex）、点（point）或行动者（actor）。连结（edge）是网络内两个组成部分之间的一个关系（tie）。在动物社会关系网络内，一个节点可以是一个个体、个体组成的亚群体、同物种的群体等单位。关系图中的节点可以附加年龄、性别、体重、等级、物种、捕食者或被捕食者等信息，例如，图 1 中分别用方块和圆圈标示雄性和雌性。节点之间可能维持一种关

表 1　SNA 在动物行为生态学研究中的应用举例

Table 1　Examples of SNA studies in animal behavior ecology

物种 Species	作者 Authors	研究方向 Research area
非灵长类动物 Non-primate animals		
石龙子（*Egernia stokesii*）	Godfrey et al（2009）	社会网络与寄生虫传播
孔雀鱼（*Poecilia reculata*）	Croft et al（2006）	社会交往的相互性,
	Edenbrow et al（2011）	社会网络与生态因素的关系
三刺鱼（*Gasterosteus aculeatus*）	Croft et al（2005）	社会交往模式
长尾侏儒鸟（*Chiroxiphia linearis*）	McDonald（2007）	求偶与社会网络
海豚（*Tursiops truncatus*）	Lusseau（2003）,	社会交往模式
	Lusseau & Newman（2004）	中心个体的决策作用
	Lusseau & Conradt（2009）	中心个体的决策作用
社会性昆虫（Social insects）	Fewell（2003）	取食行为中的聚群
意蜂（*Apis mellifera*）	Naug（2008）	社会关系与个体迁移
黄鼠（*Spermophilus colombianus*）	Bhadra et al（2009）	黄蜂与人类社会比较
	Manno（2008）	社会关系稳定性
刷尾负鼠（*Trichosurus vulpecula*）	Corner et al, 2003	社会网络与疾病传播
非洲水牛（*Syncerus caffer*）	Cross（2004）	社会结构与疾病传播
斑马（*Equus grevyi*）	Sundaresan et al（2007）	社会结构比较
	Fischhoff et al（2009）	繁殖期社会网络
非洲象（*Loxodonta africana*）	Wittemyer et al（2005）	重层社会结构
羊（domestic sheep）	Webb（2005）	社会交往与疾病传播
山羊（*Capra hircus*）	Stanley & Dunbar（2013）	社会结构与生态因素关系
猪（domestic pig）	（Durrell et al（2004）	亲密行为
猫鼬（*Suricata suricatta*）	Madden et al（2009, 2011）	群体结构与个体特征
水獭（*Lontra canadensis*）	Hansen et al（2009）	人工环境中社会关系重建
灵长类（Primates）		
褐狐猴（*Eulemur fulvus*）	Jacobs & Petit（2011）	个体对群体运动的参与
猕猴（*Macaca mulatta*）	Chepko-Sade & Sade（1979）	群体分裂模式
	Chepko-Sade et al（1989）	群分裂前的关系网络
	Sade（1989）	社会网络与中心个体
	McCowan et al（2008）	群体结构的稳定性监测
	Voelkl & Noë（2008）	社会信息传播
	Ciani et al（2012）	玩耍与社会网络
	MacIntosh et al（2012）	疾病传播与社会网络
猕猴（*M. mulatta*）和汤基猕猴（*M. tonkeana*）	Sueur & Petit（2008）	集体行动中的组织性
猕猴（*M. mulatta*）和汤基猕猴（*M. tonkeana*）	Sueur et al（2010）	分裂时的亚群模式
短尾猴（*M. arctoides*）	Dow & de Waal（1989）	亚群社会网络间的互动
豚尾猴（*M. nemestrina*）	Flack et al（2006）	秩序维护与关系网络稳定性
日本猴（*M. fuscata*）	Franz & Nunn（2009）	社会性学习与信息交流
草原狒狒（*Papio cynocephalus*）	Henzi et al（2009）	社会关系网络的稳定性
	Lehmann & Ross（2011）	不同行为社会网络比较
	King & Sueur（2011）	社会关系对取食影响
	Silk et al（2009）	社会关系与个体适合度
川金丝猴（*Rhinopithecus roxellana*）	Zhang et al（2012）	重层社会的社会网络
黑掌蛛猴（*Atteles geoffroyi*）	Ramos-Fernandez et al（2009）	信息交流模式
僧面猴（*Pithecia monachus*）和松鼠猴（*Saimiri sciureus*）	Dufour et al（2011）	迁入新环境的社会关系变化
黑猩猩（*Pan troglodytes*）	Watts（2003）	理毛互惠性
	Clark（2011）	饲养种群管理应用
	Kanngiesser et al（2011）	理毛网络与个体角色
	Schel et al（2013）	群体合并与网络稳定性
人（*Homo sapiens*）	Potterat et al（2002）	疾病传播
	Klovdahl（1985）	疾病传播
	Newman（2003）	社会结构
4 种灵长类	Matsuda et al（2012）	重层社会网络的比较
30 种灵长类	Voelkl & Kasper（2009）	合作行为
30 种灵长类	Kasper & Voelkl（2009）	灵长类社会多样性
多种灵长类	Kudo & Dunbar（2001）	社会网络与大脑新皮质大小

系的连结（例如配偶关系），也可能维持多种关系的连结（如配偶关系和等级关系等）。连结拥有内容（以何种关系的连结）、方向（有向或无向）和强度（弱连结或强连结）3 个特征。弱连结是那些连结次数不太频繁且不亲密的连结，例如非亲缘个体间的梳理关系，强连结则相反。动物间的社会关系可以表现为多种形式，除了个体间关系以外还有不同群之间的相互通讯关系、领地关系等。SNA 就是要对社会网络中行为者之间的关系进行量化。

图论是社会网络分析的基础数学理论之一，社会网络的形式化描述可分为社会关系矩阵（sociomatrix）及社会关系图（sociogram）。社会关系矩阵是数据记录和定量分析的基础。例如，表 2 矩阵表示一个野生川金丝猴群内 57 个成年个体间相互接近的量化关系。共记录到 276 个连结，占 1 596 个所有可能连结的 17.3%，表明猴群内接近行为不是随机分布的，存在某些个体频繁相互靠近，而其他个体极少相互靠近、甚至相互回避的情况。按照图论理论，可以用关系图直观地展示这些社会关系。使用 Ucinet 6.0 制图软件，可以将表 2 的信息转换为关系图。图 1 表明金丝猴群是由 9 个一雄多雌的单元组成，每个单元内的成年个体包括一个雄性和 2~7 个雌性。这是一个加权的关系图（weighted network），线条的粗细表明相互靠近的频繁程度。加权的关系图一般用于标记行为的频率或行为的持续时间，可以用半加权指数（half weight index）作为联署（affiliation）量化的指标，描述了节点之间的关系强度。在研究理毛、攻击等非对称性行为时，一般建议使用加权矩阵，并以正负赋值来表示关系的方向性。在网络图中，可用箭头表示连结方向，用线条粗细表示连结间的强度。收集加权矩阵的信息相对比较复杂，而有时研究问题相对简单，只需要了解两个节点是否出现关系，这样可以采用未加权关系图（unweighted network）。即每两个个体之间要么有关系要么则没有关系。若有关系，则连结赋值为 1；若无关系，则连结赋值为 0。此时存在连结仅仅表明两个节点之间有联系，不说明连结的方向和强度。这种二进制网络分析的方法对于研究连结的存在性比连结的强度更重要的网络来说，是十分有效的，例如 internet 网络等（具体参照综述 Newman，2003）。不过，当图中的节点数量比较多的时候，图形就会变得相当复杂，而难以直观地分析关系结构，此时用关系矩阵会更加明了。

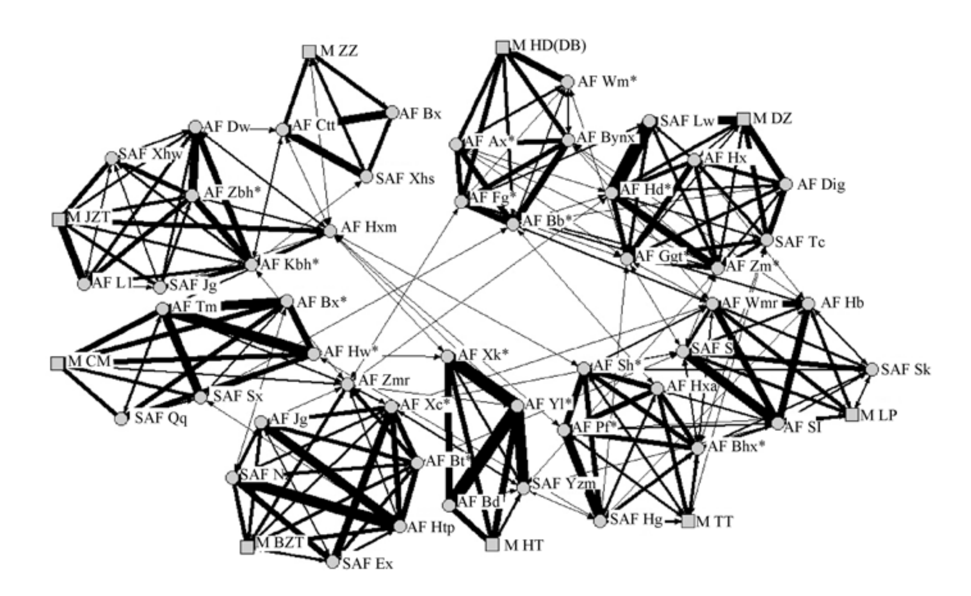


图 1 秦岭川金丝猴群内个体间接近关系的社会网络图

Figure 1 Sociogram illustrating the weighted proximity network of all adult males (open square) and adult and sub-adult females (filled circles) in a band of *Rhinopithecus roxellana* inhabiting the Qinling Mountains, China

采用 Ucinet 6.0（Borgatti et al，2002)制图。图中方块为成年雄性；圆圈为成年雌性；*标记哺乳期个体。线条粗细表示相互靠近的频率。图中只显示个体间相互靠近超过两次的关系，详见 Zhang et al（2012）。

The sociogram is created with Netdraw 6 (Borgatti et al, 2002). For clarity, only the association indices of dyads that we observed inproximity on more than two occasions are presented (Zhang et al, 2012).

表 2　川金丝猴群内的接近关系矩阵

Table 2　A weighted matrix of proximity relationships between individuals in a Sichuan snub-nosed monkey

	HT	Yl	Xk	Bd	Yzm	HD	Fq	Bb	Ax	Bynx	Wm	CM	Hw	Tm	Bx	Qq	Sx	TT	Pf	Sh	Hxa	Bhx	Hg	JZT	Dw	Kbh	Hxm	Zbh	L1	Jg	Xhw	DZ	Hd	Zm	Ggt	Hx	Lw	Dig	Tc	BZT	Htp	Xc	Zmr	Bt	Jg	Ex	Nz	ZZ	Ctt	Bx	Xhs	LP	Sl	Hb	Wmr	Sk	Sb
HT		18	12	14	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Yl	18		34	35	30	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0
Xk	12	34		18	6	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
Bd	14	35	18		1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Yzm	6	30	6	1		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
HD	0	0	0	0	0		13	8	10	12	16	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Fq	0	0	0	0	0	13		16	13	12	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	1	0	2	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	2	0	0	0
Bb	0	0	0	0	0	8	16		14	16	2	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0
Ax	0	0	0	0	0	10	13	14		13	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Bynx	0	0	0	0	0	12	12	16	13		2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0
Wm	0	0	0	0	0	16	1	2	5	2		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
CM	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		13	14	11	10	8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Hw	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	13		28	19	12	3	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Tm	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	14	28		25	5	25	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0
Bx	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	11	19	25		12	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Qq	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	12	5	12		2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Sx	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	8	3	25	4	2		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
TT	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		6	5	10	7	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Pf	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6		17	15	12	25	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	2	0	0	0	0
Sh	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	17		15	12	12	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	2	0	2	2	1
Hxa	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	15	15		13	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
Bhx	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7	12	12	13		7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	0	3	3	2
Hg	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	5	25	12	6	7		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
JZT	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		5	6	13	7	23	7	13	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
Dw	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5		16	4	21	9	5	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
Kbh	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6	16		7	19	8	10	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	3	1	1	0	0	0	0	0	0
Hxm	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	1	1	0	0	0	13	4	7		3	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0
Zbh	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7	21	19	3		12	5	13	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
L1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	23	9	8	0	12		2	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Jg	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7	5	10	1	5	2		3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Xhw	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	13	2	5	0	13	3	3		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
DZ	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		7	6	3	4	22	21	13	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Hd	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7		22	11	11	37	4	2	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
Zm	0	0	0	0	1	0	4	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6	22		9	9	8	5	8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Ggt	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	3	11	9		15	8	7	9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1
Hx	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	11	9	15		5	10	7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
Lw	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	22	37	8	8	5		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Dig	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	21	4	5	7	10	0		14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Tc	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	13	2	8	9	7	0	14		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
BZT	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		10	6	8	8	7	6	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Htp	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10		15	4	15	24	5	29	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Xc	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6	15		3	14	11	21	5	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1
Zmr	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	2	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	8	4	3		11	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Bt	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	8	15	14	11		9	8	7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Jg	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7	24	11	1	9		3	7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Ex	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6	5	21	0	8	3		15	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Nz	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	29	5	0	7	7	15		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ZZ	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		11	11	8	0	0	0	0	0	0
Ctt	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	3	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	11		22	22	0	0	0	0	0	0
Bx	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	11	22		9	0	0	0	0	0	0
Xhs	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	8	22	9		0	0	0	0	0	0
LP	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		8	8	10	3	7
Sl	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2	1	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	8		19	17	2	25
Hb	0	0	0	0	0	0	2	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	8	19		17	2	5
Wmr	0	0	0	0	0	0	0	2	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	17	17		5	7
Sk	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	2	2	5		13
Sb	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	7	25	5	7	13	

用于社会网络分析的软件有很多，而在动物行为生态学研究中建议使用 SOCPROG（Whitehead, 2009）（http://myweb.dal.ca/hwhitehe/social.htm）、Ucinet（Borgatti et al, 2002）（http://www.analytictech.com/ucinet）或 Pajek（De Nooy et al, 2005）（http://vlado.fmf.uni-lj.si/pub/networks/pajek）等软件。这些软件允许社会关系网络的统计数据计算和关系网络的可视化表达，而且可以下载免费试用版本（主要功能与正式版本差别不大）。本文中的图标制作主要用了 Ucinet 6.0 和 SOCPROG 2.4 这两款软件，其中用 Ucinet 6.0 进行网络图制作，用 SOCPROG 2.4 对网络图进行多维度（multidimensional scaling）、簇分析等方面表达。此外，SOCPROG 允许在加权的关系网络和未加权的关系网络之间相互转换，最多可以容纳大约 1000 个体。在行为矩阵分析方面，尤其需要是比较不同矩阵或不同关系之间的异同时，建议采用 Matman 软件（de Vries et al, 1993; Zhang et al, 2008）（www.noldus.com/animal-behavior-research/products/matman）。

2 用 SNA 怎样分析社会关系

2.1 分析个体在网络中的角色

个体在群内的角色是行为生态研究中的重要信息。研究者们一般会记录焦点个体与群内哪些个体交往，发生了哪些行为，以及各项行为频次、强度等指标。这些指标在 SNA 中被称为节点程度（node degree）和力度（strength）。节点程度是指一个节点与其他临近节点具有连结的数量之和。在一个对称关系网中，可以不计算连结的权重，只表明有关系临近节点的个数。用 Ucinet 6.0 可以计算表 2 对称矩阵中的个体节点程度等指标（表 3）。而在一个不对称关系网络中，就需要区分点入度（in-degree）和点出度（out-degree）。点入度是指一个个体（节点）作为接受者获得连结的数量，点入度高意味着网络中有许多行动者选择与其互动。点出度是指一个个体发出的连结数量，表明该行动者在网络中接触其他个体的能力和倾向。例如，高等级的个体一般会接受更多个体理毛（点入度高），而为其他个体理毛少（点出度低）。在加入连结权重的情况下，节点程度可以扩展为力度，也即一个个体（节点）所有连结的权重总和。在一个加权关系网络内，我们可以把节点程度看作是一个个体的力度。通过测量上述的节点程度和力度我们可以得知一个个体在关系网络中和其周边个体的关系，以及个体在网络中的中心度。

中心度（centrality）是另一个分析个体在网络中角色的指标，可以衡量某个体是否处于网络的中心位置。获得中心位置的个体在网络中拥有最多的连结。其中，中间性中心度（betweenness centrality coefficient）是依据除焦点个体外的所有其他两个个体之间的最短路径，经过该个体的数量得出的中心度。绝对中间性中间度指的是图中该点与其他各点间的短程线距离之和，其计算公式为：

$$C_{\mathrm{AB}i}=\sum_{j}^{n}\sum_{k}^{n}b_{jk}(i)$$

其中 $j\neq k\neq I$，且 $j<k$。相对中间性中间度的计算公式为：

$$C_{RBi}=\frac{2C_{ABi}}{n^2-3n+2}$$

中间性中心度 $C_{\mathrm{RB}i}$ 的取值范围为 0 和 1 之间。若一个节点的中间性中心度为 0，意味着该点对其他个体没有影响力，处于网络的边缘；若一个节点的中间性中心度为 1，则意味着该点对其他个体有完全的影响力，处于网络的核心。该参数反映了个体在网络中的影响力和传染力，对于研究一个个体在信息或疾病的传播过程中所起的作用有着极为重要的作用。例如，如果病原体携带者的中间中心度高，说明该个体与不同其他个体频繁接触，处于整体网络的中心，这样可能导致疾病快速传播，或引发大规模的疾病爆发；而如果携带者的中间性中心度低，那么疾病传播速度较慢或仅在小范围内传播。此外，在一个中间性中心度分布高度不均的关系网络中，高中间性中心度个体的死亡或被人为移除很可能导致整个关系网络分裂为互不联系的几块。由此，Thierry et al（2004）推论在猕猴（*Macaca mulatta*）或日本猴这类等级关系专制种类的关系网络中，高等级个体是社会网络的核心，该个体被移除或死亡，很可能引起分群分裂；而在熊猴（*M. assamensis*）、摩尔猕猴（*M. maura*）这类等级关系平等种类的关系网中，个体中心度分布较为均匀，则不易出现因移除一个关键个体而导致分群现象。Lusseau & Newman（2004）也发现在宽吻海豚（*Tursiops truncatus*）形成分离聚合的社会群，群内成员的中间性中心度差异明显，中心度高的个

表 3　一个金丝猴群内个体的社会网络参数

Table 3　Individual measures of a Sichuan snub-nosed monkey group

Name	Age	Sex	Degree	Strength	Betweenness centrality	Eigenvector centrality	Clustering coefficient
HT	Adult	Male	8	52	1.2	16.4	0.64
HD	Adult	Male	6	61	0.1	12.8	0.21
CM	Adult	Male	6	58	0.1	10	0.39
TT	Adult	Male	8	33	2	13	0.32
JZT	Adult	Male	9	74	0.9	13.4	0.13
DZ	Adult	Male	9	77	0.4	19.6	0.21
BZT	Adult	Male	7	53	0.1	11.7	0.28
ZZ	Adult	Male	4	31	0	6.1	0.45
LP	Adult	Male	6	38	0.1	10	0.33
Yl*	Adult	Female	12	121	2.5	20.2	0.24
Xk*	Adult	Female	9	73	1.4	15.9	0.57
Bd	Adult	Female	7	70	0.7	11.2	0.62
Fq*	Adult	Female	15	67	7	31	0.21
Bb*	Adult	Female	13	64	4	25.3	0.24
Ax*	Adult	Female	10	58	1.7	22.4	0.27
Bynx	Adult	Female	12	59	2	25.4	0.26
Wm*	Adult	Female	6	27	0.1	13.8	0.28
Hw*	Adult	Female	12	79	4.1	19.6	0.34
Tm	Adult	Female	12	102	2.4	20.5	0.23
Bx*	Adult	Female	12	74	5.3	21.7	0.38
Pf*	Adult	Female	13	81	5.6	21	0.21
Sh*	Adult	Female	12	71	3.8	19.7	0.24
Hxa	Adult	Female	7	60	0.4	12.2	0.28
Bhx*	Adult	Female	12	66	2.7	20.7	0.21
Dw	Adult	Female	8	63	0.2	12	0.27
Kbh*	Adult	Female	17	79	7.6	28.7	0.18
Hxm	Adult	Female	13	36	4.5	20.4	0.13
Zbh*	Adult	Female	9	81	0.7	13.8	0.21
L1	Adult	Female	7	55	0.4	11.1	0.26
Hd*	Adult	Female	17	99	9.2	36.3	0.2
Zm*	Adult	Female	15	76	3	31.5	0.23
Ggt*	Adult	Female	15	68	5	30.5	0.22
Hx	Adult	Female	10	61	0.6	22.6	0.25
Dig	Adult	Female	7	59	0	9.8	0.29
Htp	Adult	Female	9	103	1.5	14.5	0.21
Xc*	Adult	Female	16	81	7.9	26.2	0.22
Zmr	Adult	Female	11	33	2.8	22.4	0.17
Bt*	Adult	Female	13	75	4.8	24.4	0.24
Jg	Adult	Female	10	63	2.6	16.6	0.34
Ctt	Adult	Female	10	64	2.9	16.3	0.18
Bx	Adult	Female	8	45	1.6	15.2	0.33
Sl	Adult	Female	10	83	0.9	15.7	0.17
Hb	Adult	Female	9	57	1.2	16.2	0.26
Wmr	Adult	Female	11	67	2.7	20.8	0.2
Yzm	Sub-adult	Female	8	47	1.6	14.3	0.49
Qq	Sub-adult	Female	7	42	0.4	11.1	0.42
Sx	Sub-adult	Female	7	43	0.8	11.5	0.41
Hg	Sub-adult	Female	9	58	1.6	15.6	0.3
Jg	Sub-adult	Female	10	34	2.5	15.6	0.27
Xhw	Sub-adult	Female	6	39	0	8.8	0.27
Lw	Sub-adult	Female	6	54	0.7	17.9	0.24
Tc	Sub-adult	Female	8	54	0.7	17.9	0.24
Ex	Sub-adult	Female	6	59	0	9.8	0.29
Nz	Sub-adult	Female	7	74	0.2	11.7	0.29
Xhs	Sub-adult	Female	8	43	1.2	13.3	0.33
Sk	Sub-adult	Female	7	31	0.1	11.6	0.2
Sb	Sub-adult	Female	11	64	3	21.2	0.17
MEAN			9.7	62.0	2.13	17.6	0.28
SD			3.1	19.5	2.2	6.3	0.11
Minimum			4	27	0	6.1	0.13
Maximum			17	121	9.3	36	0.64

*标记哺乳雌性。Individuals with asterisk are those lactating females.

体更可能影响分离聚合的现象。表 3 数据表明，金丝猴群内成年雌性明显比成年雄性的中心度更高，尤其是哺乳雌性的中间中心度平均值较高（Zhang et al, 2012）。由此可以推论，这些哺乳雌性周围频繁出现共同照顾新生幼仔等亲密行为，同时也更有可能增加寄生虫等疾病传播的风险。

特征向量中心度（eigenvector centrality coefficient）是另一个重要的中心度测量方法，描述一个行动者在多大程度上居于其他两个行动者之间，是一种资源控制能力指数。其计算公式为：

$$ci=\frac{1}{\lambda}\sum_{j=1}^{N}w_{ij}c_j,$$

c_i 为 W 矩阵中个体的中心度，j 为 W 矩阵中与 i 相关联的个体，$j=1,\cdots N$, c_i 的特征向量中心度为：

$$c_i^n=\sqrt{2}\frac{c_i}{(\sum_{i-1}^{N}c_i^2)^{1/2}}$$

特征向量中心度的取值范围为 0 和 1 之间。在关系网络中，如果一个个体和其他个体高度联系或者与那些中心度高的个体相连结，那么此个体的特征向量中心度就会较高。简单来说，假设甲和乙有相同数量的朋友（节点程度一样），但是他们交往的个体不同，甲的朋友都是中心度较高的“明星”个体，而乙的朋友都是中心度较低的“平民”个体，那么甲和乙在社会网中的影响力会不同，即其特征向量中心度赋值会不同。该中心度不仅计算连结的权重与方向参数，也表明个体在网络整体中的影响力，对理解个体在网络中的作用非常重要。例如 Sueur & Petit（2008）就利用此参数研究猕猴和汤基猕猴（*M. tonkeana*）的群体移动规律，发现雄性的特征向量中心度越高对决定群体移动方向的影响力越大。Ramose-Fernandez et al（2009）发现蛛猴（*Ateles geoffroyi*）群内年轻雄性中心度明显高于其他年龄性别组，是连结雄性和雌性社会关系的核心。类似的，由图 1 和表 3 可以看出，金丝猴群内繁殖单元间的联系较少，但是有些雌性可能出现在与其他单元个体交往的现象，在联系不同繁殖单元间起着桥梁作用，具有相对较高的中心度（Zhang et al, 2012）。由此可以推论，这些雌性在繁殖单元间的信息传递、调节移动方向等方面有着重要的作用，对这些个体的深入观察研究，有利于了解金丝猴繁殖单元间聚合−分离的稳定机制。

除上述两个中心度之外，一般还有两种常用的网络中心度：亲密中心度（closeness centrality）和局部中心度（local centrality）。亲密中心度与中间性中心度相反，考虑的是在多大程度上某行动者不受其他行动者的控制的程度。而局部中心度描述的是行动者的局部中心指数，用于测量网络中的行动者的自身交互能力。

2.2　分析社会群内的派系

除了上述个体中心度对网络的影响以外，动物的性别、年龄、亲属关系等属性将极大地影响个体间的互动模式。处于同一类别的个体间互动频率会明显增加，出现分群或派系。我们把测量群内形成小集团化（cliquishness）的方法称为中间测量方法，因为这些方法描述的是超越单个个体之外的关系。

聚类系数（clustering coefficient）通过焦点个体附近个体间关系密度（节点程度），测量局域网络的聚集程度。聚类系数赋值为 0，说明邻近个体之间互不联系；赋值为1，说明焦点个体周围个体间联系充分。群内不均说明群内出现小集团化，群体网络稳定性低，某个关键个体的消失或死亡可能导致群体的破碎化甚至彻底分裂。此系数在动物行为学研究中具有广阔的使用价值。例如，Lehmann & Boesch（2009）使用半加权指数和聚类系数分析了10年间黑猩猩雌性社会关系的变化。Flack et al（2006）利用此测量参数研究豚尾猕猴（*M. nemestrina*）的种群稳定性，实验将具有高聚类系数的个体从群内移除，结果导致群体内个体间打斗行为增多，理毛行为减少，说明这些个体在群内冲突管理和维持社会关系稳定性方面有重要作用。Wittemyer et al（2005）运用该参数发现象群中具有多个层次的亚群，各层次亚群分化明显受食物等环境压力影响。我们用此系数发现川金丝猴群内的个体差异不大，说明群内没有明显的中心领导个体（Zhang et al, 2012）；进一步采用层序聚类分析（hierarchical cluster analysis）和 SOCPROG 2.4软件，可以描绘个体关系的树状图（图2）。该图表明金丝猴群内具有多个分层网络，左边的大分支代表不同一雄多雌繁殖单元，而右边的小分支代表繁殖单元内的不同亲密关系层次，最亲密的可能是母女、姐妹或配偶等关系。此外，Lusseau & Newman（2004）和 Wolf et al（2007）分别运用模块法（modularity methods）分析群内的派系，可以按照年龄组、性别组或家系对各派系进行多维排列。

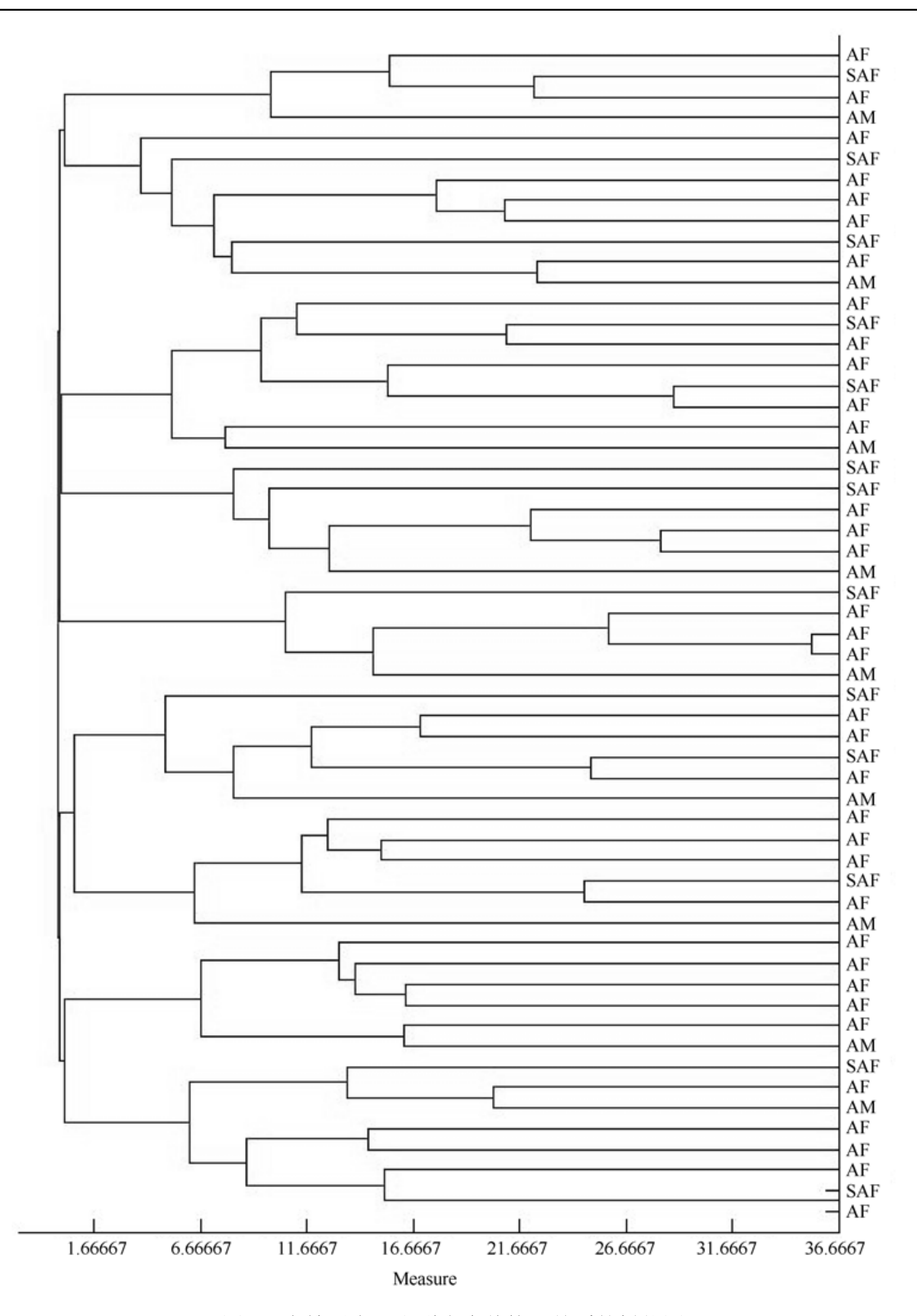


图 2　秦岭川金丝猴群内个体接近关系的树状图

Figure 2　Dendrogram of proximity associations between individuals in a band of *Rhinopithecus roxellana* inhabiting the Qinling Mountains, China

采用 SCOPROG 2.4 制图。AM：成年雄性；AF：成年雌性：SAF：亚成体雌性。树状图分析详见 Whitehead（2009）。

The dendrogram was created in SCOPROG 2.4. Labels on the right axis represent adult males (AM), adult females (AF), and subadult females (SAF). See Whitehead（2009）, for details concerning the generation of this figure.

另一个用到关系网络方法的中间分析就是分析个体间的互动是对称的（symmetrical）还是非对称的（asymmetrical）。对称性测量方法是一种总体关系的测量方法，只应用于具有方向性的关系网络。通过对称性研究我们可以探讨诸如灵长类个体相互理毛是否寻求回报等问题，例如 Thierry et al（2004）研究了猕猴属不同种类的理毛行为互惠性，发现一个专制种类（猕猴和日本

猴）的互惠性明显低于等级关系相对平等物种的（阿萨姆猴、熊猴）。

2.3 分析整体网络

群体性测量方法关注整体的群体，尤其适用于对群体间信息传递和疾病传播等研究。群体密度（group density）是关系网内观察到的连结除以所有可能的连结。在无向图中，密度计算公式为 $Density=2n/[N\times(N-1)]$。$n$ 是实际连结数，N 为网络中所有行动者的数量。而在有向图中，最多可能连结数为 $N\times(N-1)$，所以有向图的密度计算公式为 $Density=n/[N\times(N-1)]$。密度显示了网络中的相互连结程度，群体密度越大，则该群体就越稳定、越有凝聚力。直径（diameter）也是测量群体凝聚的好方法，指群体内最长的路径长度。直径越短，群体内部凝聚力越强，相应的，内部之间信息或疾病等传播越快。值得注意的是，计算群体密度和直径需要使用未加权的矩阵数据（或可以用 SOCPROG 软件和 Ucinet 中的 netDraw 将加权数据转换为未加权数据后再进行计算）。此外，群内个体参数的平均值、最大最小值等统计数据也可以体现群体的特性，例如平均聚类系数（mean clustering coefficient）和平均节点程度（mean node degree）可以反映一个群体的稳定性和凝聚力。例如 Naug（2008）发现意蜂群内的聚类系数越低，意味着群内关系稳定，越容易传播信息和疾病。

2.4 对 SNA 参数的比较分析

比较分析是行为生态学者比较常用的方法。SNA 提供的量化数据非常有利于进行不同维度的比较，包括：（1）比较同一关系网络中的不同参数，例如 King et al（2008）比较草原狒狒（*Papio ursinus*）的 3 个关系网络（取食、理毛和血缘），发现取食网络与理毛网络相关，而与血缘网络不相关，可能因为理毛行为可以提高个体间容忍度；（2）比较不同时间段的数据，例如 Hansen et al（2009）曾对被捕捉的水獭（*Lontra canadensis*）之间的社会互动进行了维持 10 个月的调查，发现它们之间的社会互动的力度越来越弱；（3）比较同一物种的不同群体，例如 Kasper & Voelki（2009）比较了 30 种灵长类中 70 个群内的社会网络，证实了灵长类社会结构的高度多样性。

需要注意的是，SNA 的基础假设是研究群具有相对稳定的社会关系。但是，实际研究中很多因素会影响社会关系，例如动物的移动能力、栖息地情况和资源分布情况等。长时间记录和比较不同时期社会网络变化有利于减少这方面的偏差（Hansen et al, 2009; Wittemyer et al, 2005）。此外，行为记录中可能出现个体组成变化或人为因素导致数据损失。SNA 各参数对这种数据变化的反应程度不同，其中节点程度和群体密度等参数非常容易受个体组成变化的影响，而中间性中心度、亲密中心度和直径等参数受影响的程度较小。

3 SNA 的应用前景

3.1 性行为与性选择

性行为与性选择是行为生态学的重要内容。雄性的繁殖成功度取决于配偶的数量和对配偶性行为的垄断程度。如果雄性无法阻止其配偶与其他雄性接触，就会增加精子竞争程度和增加配偶外繁殖的比例（Wilson，1975）。在繁殖行为的网络矩阵中，如果雄性与雌性节点度数呈正相关，那么雄性垄断雌性的可能性低。雄性需要：（1）频繁地交配（增加交配行为的节点度数）。例如猕猴属中，多雄多雌种类比一雄多雌种类有更频繁的交配行为和更长的交配时间（Thierry et al, 2004）。（2）阻止其他雄性靠近（增加对外来雄性的攻击度数），增加垄断配偶的程度（增加与配偶的靠近度数）。例如大猩猩等雄性保卫领地，守在配偶附近，而对其他雄性的排他性很强（Yamagiwa, 2011）。SNA 也可以通过分析雄性−雄性竞争网络、雄性−雌性靠近网络各项参数，验证影响雄性繁殖成功的因素。例如，McDonald（2007）运用 SNA 分析了长尾侏儒鸟（*Chiroxiphia linearis*）的交配行为，发现雄性繁殖成功度与其目前的社会地位关系不大，而与其几年前雄性社交网络的中心度明显相关，也就是说雄性年轻时在不同求偶场间相互合作，将有助于其成年后提高社会地位和获得繁殖成功。

除了雄性性行为以外，近年研究表明群内雌性选择雄性的倾向不同（Morris et al，2003）。目前虽然仍缺乏对雌性性行为网络的研究，不过可以推论，如果雌性的节点度数较高（频繁与不同雄性接触）或中心度较高（频繁与不同网络层次的雄性接触），就更有可能遇到高质量的雄性，所以这类雌性会更加挑剔选择配偶。在同样大小的两个群中，群内个体相互交往越频繁（平均节点度数较高），雌性对配偶越挑剔。SNA 可以为这两个假设提供量化数据。

3.2　互惠与合作

借助 SNA 的量化参数和互惠与单向性检验（test of reciprocity/unidirectionlity, Hemelrijk, 1990），可以验证利他行为的相关假设。例如，对人类（Louis et al, 2007）和猕猴（Berman et al, 1997）的相互利他研究表明，随着群内成员数量增加，不合作者更容易骗取合作者的利益，阻止了相互利他行为的发展，导致相互利他行为减少。Watts & Strogatz（1998）运用六度分离理论，将这一现象放大到更大的人类社会中，验证表明在巨大群体内会形成一些较为稳定的小分群结构（e.g. 低节点度数，高聚类系数），相互熟悉的分群成员之间更容易防止不合作者的欺骗行为，有利于维持相互利他行为。这一理论也适合于孔雀鱼的利他行为网络（Croft et al，2006）。

3.3　信息流动与疾病传播

SNA 对人类社会研究的一个主要贡献是分析信息和疾病等的传播途径（Gould & Fernandez, 1989）。SNA 可以：（1）量化社会网络结构对信息流动的影响；（2）量化个体在网络中的位置和对信息传递的影响；（3）量化个体参数和网络参数的相关性，以及这两个参数对信息流动的影响。而 SNA 在动物学中的相关研究则刚刚起步，包括对鸟类鸣叫的学习过程（Beecher et al，2007）；鸟类通讯行为（Valone，2007）、新行为的传播（Ottoni et al，2005）和野生动物疾病传播（reviewed by Krause et al，2007; Wey et al，2008）等。疾病传播的网络建设在野生动物保护方面有重要的应用意义。此外，在饲养种群中，群内成员组成经常受到人为变动。SNA 有助于分析饲养动物群内的社会关系变化和稳定性，例如 McCowan et al（2008）将 SNA 用于黑猩猩（*Pan troglodytes*）的饲养管理；Leonardi et al（2010）将 SNA 用于监测卷尾猴（*Cebus apella*）和松鼠猴（*Saimiri sciureus*）的饲养种群在改变生活场地后的社会关系变动。

3.4　定义一个社会群结构

什么是一个群体（group）。动物学者一般把靠近在一起，频繁具有理毛、通讯等积极交往的个体群定义为一个群体，群内成员通常在某一空间中的活动具有较强的同时性（synchrony）。这一定义比较适合于具有稳定关系的社会性种类（如猕猴等），但是对于社会性低的种类，例如猩猩倾向于独居生活，个体间即使相互靠近也很少出现社会交往，就很难定义什么是社会群（Zhang et al，2012）。在定义一个群的时候，如果包含个体太少会导致关系网络的不完整，而包含个体太多则容易导致关系网络的分散化和碎片化。即实际可能是几个联系松散群（Lusseau, 2006）。在行为学观察中，可以收集个体间相互互动的数据，运用聚类分析方法，分析不同的关系级别，进而分析一些影响群体构成的社会性、生态性因素。

社会关系如何影响个体适应性，这个问题的解释至今尚不明确。在人类社会中，个体所处的社会网络会影响其健康等适应性（Friedman & Aral, 2001）。在动物群内，中心度高的个体（频繁参与社会行为），可能会有较高的繁殖成功度，但也可能面临更多被传染疾病、寄生虫的风险。SNA 可以分析个体的网络参数与适应性（繁殖成功度、获得疾病可能性等）的关系，验证社会行为的适应性意义。此外，不但个体行为影响关系网络，关系网络反过来也可影响个体行为。比如 Silk et al（2009）曾发现拥有更多关系的雌性狒狒（高中心度）比拥有较少关系的雌性狒狒养育更多的后代。

3.5　分析中心个体

个体在群体中有不同的作用。如何判定社会关系网的中心个体。传统上，研究者会把等级最高的个体视为群中最具中心性的个体，因为这些个体在攻击或合作等互动行为中占据最重要位置（Flack et al, 2005; Lusseau & Newman, 2004）。然而这种看法却忽略了一些对群体稳定性具有连结作用的个体的重要性。例如图 1 中，一些雌性金丝猴不仅与自己的繁殖单元保持联系，也在单元之间联系中起到桥梁作用。这类个体的节点程度未必很高，但却具有最高的聚类系数（表 3）。由此看出，中心度可以从两个方面理解：一是连结两个亚群、维护群体凝聚的个体；二是维护群体稳定、进行冲突管理的个体。每个个体在群内会有不同的社会角色，具有不同的中心度排列（Flack et al, 2006; Lusseau &Newman, 2004）。SNA 可以提供分析社会复杂关系的量化数据，但是至于选取哪种中心度标准则取决于研究者的研究目的。

3.6　社会关系网络的稳定性研究

群体水平的特征也是社会生态学中关注的主要问题。在相似的成员数量和生活环境下，为什么一个群体比另一个群体更稳定。在此问题上社会关系网络分析方法再次显示出了强大的作用。例如，

Wittemyer et al（2005）分析了 4 年内非洲象群间的社会关系，发现群间关系明显受降雨等生态因素的影响。此外，我们可以通过观察群体内某个个体突然死亡后关系网络的变化来研究群体内部的性质，也可以通过理论上的假设移除某个个体，来虚拟探测群体的性质（van Horn et al, 2007）。在其他情况大致相同的前提下比较不同的群体性质，也可以探究不同群体性质对群体稳定性的影响程度。当然，上述虚拟实验、比较研究都很难做到真正精确的程度，因此想要真正探究社会关系网络稳定的原因，需要长时间的多维度比较研究。

4 结 论

作为一种新技术，SNA 的应用潜力引起了人们越来越多的兴趣。传统的行为生态学研究大都集中在对配对个体间关系的观察和分析上。而 SNA 可以让我们以全局视野理解一个群体，从两方关系、三方关系、个体与群体间关系、到动态网络模型等角度进行研究，为验证性行为与性选择理论、互惠与合作理论、信息流动与疾病传播理论、个体策略与种群选择理论、界定一个群、预测社会关系网络稳定性等行为生态学领域提供量化根据。SNA 在其他生物学领域也得到了很好的应用，例如基因或蛋白质网络结构（Lee et al, 2002）；神经网络（Humphries et al, 2006; Laughlin & Sejnowski, 2003）；有机体个体间的相互作用（McCowan et al, 2008），不同种间的相互作用（Dunne et al, 2002; Oliveira et al, 1998）等方面的研究。SNA 不仅仅是一套技术、而是一种关于关系网的方法论。它阐述世界的整体性，即每一个个体都不是独立的，而是通过信息、行为、空间分布、生态因素等连结共生的。这种视角恰恰体现了新世纪学术思潮的转变，即从实体论走向关系论。将这一方法论引入行为生态学将扩展研究视角，将为解释该领域的假说和理论提供契机。

致谢:中山大学人类学系和生命科学学院的各位同事为本文提供了跨学科思路。一并深表谢忱。

参考文献:

Barnes JA. 1954. Class and committees in a Norwegian island parish. *Human Relations,* **7**(1): 39-58.

Beecher MD, Burt JM, O'Loghlen AL, Templeton CN, Campbell SE. 2007. Bird song learning in an eavesdropping context. *Animal Behaviour,* **73**(6): 929-935.

Berman CM, Rasmussen KLR, Suomi SJ. 1997. Group size, infant development and social networks in free-ranging rhesus monkeys. *Animal Behaviour,* **53**(2): 405-421.

Bhadra A, Jordánb F, Sumana A, Deshpande SA, Gadagkar R. 2009. A comparative social network analysis of wasp colonies and classrooms: Linking network structure to functioning. *Ecological Complexity,* **6**(1): 48-55.

Borgatti SP, Everett M, Freeman L. 2002. Ucinet 6. 0 for Windows. Software for social network analysis Online publication http://www.analytictech.com/ucinet.

Borgatti SP, Mehra A, Brass DJ, Labianca G. 2009. Network analysis in the social sciences. *Science,* **323**(5916): 892-895.

Cheney DL. 1978a. Interactions of immature male and female baboons with adult females. *Animal Behaviour,* **26**: 389-408.

Cheney DL. 1978b. The play partners of immature baboons. *Animal Behaviour,* **26**: 1038-1050.

Chepko-Sade BD, Reitz KP, Sade DS. 1989. Sociometrics of *Macaca mulatta* IV: network analysis of social structure of a pre-fission group. *Social Networks,* **11**(3): 293-314.

Chepko-Sade BD, Sade DS. 1979. Patterns of group splitting within matrilineal kinship groups. *Behavioral Ecology and Sociobiology,* **5**(1): 67-86.

Ciani F, Dall'Olio S, Stanyon R, Palagi E. 2012. Social tolerance and adult play in macaque societies: a comparison with different human cultures. *Animal Behaviour,* **84**(6): 1313-1322.

Clark FE. 2011. Space to choose: network analysis of social preferences in a captive chimpanzees community, and implications for management. *American Journal of Primatology,* **73**(8): 748-757.

Corner LAL, Pfeiffer DU, Morris RS. 2003. Social-network analysis of *Mycobacterium bovis* transmission among captive brushtail possums (*Trichosurus vulpecula*). *Preventive Veterinary Medicine,* **59**(3): 147-167.

Croft DP, James R, Thomas P, Hathaway C, Mawdsley D, Laland KN, Krause J. 2006. Social structure and co-operative interactions in a wild population of guppies (*Poecilia reticulata*). *Behavioral Ecology and Sociobiology,* **59**(5): 644-650.

Croft DP, James R, Ward AJW, Botham MS, Mawdsley D, Krause J. 2005. Assortative interactions and social networks in fish. *Oecologia,* **143**(2): 211-219.

Cross PC, Lloyd-Smith JO, Bowers JA, Hay CT, Hofmeyr M, Getz WM. 2004. Integrating association data and disease dynamics in a social ungulate: bovine tuberculosis in African buffalo in the Kruger National Park. *Annales Zoologici Fennici,* **41**(6): 879-892.

de Nooy W, Mrvar A, Batagelj V. 2005. Exploratory Social Network Analysis with Pajek. Cambridge: Cambridge University Press.

de Vries H, Netto WJ, Hanegraaf PLH. 1993. MatMan: a program for the analysis of sociometric matrices and behavioural transition matrices. *Behaviour,* **125**(3): 157-175.

Dow MM, de Waal FBM. 1989. Assignment methods for the analysis of network subgroup interactions. *Social Networks,* **11**(3): 237-255.

Dufour V, Sueur C, Whiten A, Buchanan-Smith HM. 2011. The impact of moving to a novel environment on social networks, activity and wellbeing in two new world primates. *American Journal of Primatology,* **73**(8): 802-811.

Dunne JA, Williams RJ, Martinez ND. 2002. Food-web structure and network theory: the role of connectance and size. *Proceedings of the National Academy of Sciences of Sciences of the United States of America,* **99**(20): 12917-12922.

Durrell JL, Sneddon IA, O'Connell NE, Whitehead H. 2004. Do pigs form preferential associations? *Applied Animal Behaviour Science,* **89**(1-2): 41-52.

Edenbrow M, Darden SK, Ramnarine IW, Evans JP, James R, Croft DP. 2011. Environmental effects on social interaction networks and male reproductive behaviour in guppies, *Poecilia reticulata*. *Animal Behaviour,* **81**(3): 551-558.

Fairbanks LA. 1980. Relationships among adult females in captive vervet monkeys: testing a model of rank-related attractiveness. *Animal Behaviour* **28**:853–859.

Fewell JH. 2003. Social insect networks. *Science,* **301**(5641): 1867-1870.

Fischhoff IR, Dushoff J, Sundaresan SR, Cordingley JE, Rubenstein DI. 2009. Reproductive status influences group size and persistence of bonds in male plains zebra (*Equus burchelli*). *Behavioral Ecology and Sociobiology,* **63**(7): 1035-1043.

Flack JC, de Waal FBM, Krakauer DC. 2005. Social structure, robustness, and policing cost in a cognitively sophisticated species. *The American Naturalist,* **165**(5): 126-139.

Flack JC, Girvan M, de Waal FBM, Krakauer DC. 2006. Policing stabilizes construction of social niches in primates. *Nature,* **439**(7075): 426-429.

Franz M, Nunn CL. 2009. Network-based diffusion analysis: a new method for detecting social learning. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences,* **276**(1663): 1829-1836.

Friedman SR, Aral S. 2001. Social networks, risk-potential networks, health, and disease. *Journal of Urban Health: Bulletin of the New York Academy of Medicine,* **78**(3): 411-418.

Godfrey SS, Bull CM, James R, Murray K. 2009. Network structure and parasite transmission in a group living lizard, the gidgee skink, *Egernia stokesii*. *Behavioral Ecology and Sociobiology,* **63**(7): 1045-1056.

Gould RV, Fernandez RM. 1989. Structures of mediation: a formal approach to brokerage in transaction networks. *Sociological Methodology,* **19**: 89-126.

Hanby JP. 1980. Relationships in six groups of rhesus monkeys. II: Dyads. *American Journal of Physical Anthropology* **52**: 565–575.

Hansen H, McDonald DB, Groves P, Maier JAK, Ben-David M. 2009. Social networks and the formation and maintenance of river otter groups. *Ethology,* **115**(4): 384-396.

Hemelrijk CK. 1990. Models of, and tests for, reciprocity, unidirectionality and other social interaction patterns at a group level. *Animal Behaviour,* **39**(6): 1013-1029.

Henzi SP, Lusseau D, Weingrill T, van Schaik CP, Barrett L. 2009. Cyclicity in the structure of female baboon social networks. *Behavioral Ecology and Sociobiology,* **63**(7): 1015-1021.

Humphries MD, Gurney K, Prescott TJ. 2006. The brainstem reticular formation is a small-world, not scale-free, network. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences,* **273**(1585): 503-511.

Jacobs A, Petit O. 2011. Social network modeling: a powerful tool for the study of group scale phenomena in primates. *American Journal of Primatology,* **73**(8): 741-747.

Kanngiesser P, Sueur C, Riedl K, Grossmann J, Call J. 2011. Grooming network cohesion and the role of individuals in a captive chimpanzee group. *American Journal of Primatology,* **73**(8): 758-767.

Kasper C, Voelki B. 2009. A social network analysis of primate groups. *Primates,* **50**(4): 343-356.

Keverne EB. 1992. Primate social relationships: their determinants and consequences. *Advances in the Study of Behavior* **21**:1–37.

King AJ, Douglas CMS, Huchard E, Isaac NJB, Cowlishaw G. 2008. Dominance and affiliation mediate despotism in a social primate. *Current Biology,* **18**(23): 1833-1838.

King AJ, Sueur C. 2011. Where next? Group coordination and collective decision making by primates. *International Journal of Primatology,* **32**(6): 1245-1267.

Klovdahl AS. 1985. Social networks and the spread of infectious diseases: the AIDS example. *Social Science & Medicine,* **21**(11): 1203-1216.

Knoke D, Yang S. 2008. Social Network Analysis. New York: Sage Publications, Inc.

Koyama NF. 2003. Matrilineal cohesion and social networks in *Macaca fuscata*. *International Journal of Primatology,* **24**(4): 797-811.

Krause J, Croft D, James R. 2007. Social network theory in the behavioural sciences: potential applications. *Behavioral Ecology and Sociobiology,* **62**(1): 15-27.

Kudo H, Dunbar RIM. 2001. Neocortex size and social network size in primates. *Animal Behaviour,* **62**(4): 711-722.

Laughlin SB, Sejnowski TJ. 2003. Communication in neuronal networks. *Science,* **301**(5641): 1870-1874.

Lee TL, Rinaldi NJ, Robert F, Odom DT, Bar-Joseph Z, Gerber GK, Hannett NM, Harbison CT, Thompson CM, Simon I, Zeitlinger J, Jennings EG, Murray HL, Gordon DB, Ren B, Wyrick JJ, Tagne JB, Volker TL, Fraenkel E, Gifford DK, Young RA. 2002. Transcriptional regulatory networks in *Saccharomyces cerevisiae*. *Science,* **298**(5594): 799-804.

Lehmann J, Ross C. 2011. Baboon (*Papio anubis*)social complexity-a network approach. *American Journal of Primatology,* **73**(8): 775-789.

Lehmann L, Boesch C. 2009. Sociality of the dispersing sex: the nature of social bonds in west African female chimpanzees, *Pan troglodytes*. *Animal Behaviour,* **77**(2): 377-387.

Leonardi R, Buchanan-Smith HM, Dufour V, MacDonald C, Whiten A. 2010. Living together: behavior and welfare in single and mixed species groups of capuchin (*Cebus apella*) and squirrel monkeys (*Saimiri sciureus*).

American Journal of Primatology, **72**(1): 33-47.

Louis KS, Holdsworth JM, Anderson MS, Campbell EG. 2007. Becoming a scientist: the effects of work-group size and organizational climate. *The Journal of High Education,* **78**(3): 311-336.

Lusseau D, Conradt L. 2009. The emergence of unshared consensus decisions in bottlenose dolphins. *Behavioral Ecology and Sociobiology,* **63**(7): 1067-1077.

Lusseau D, Newman MEJ. 2004. Identifying the role that animal play in their social networks. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences,* **271**(S6): S477-S481.

Lusseau D. 2003. The emergent properties of a dolphin social network. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Science,* **270**(S2): 186-188.

Lusseau D. 2006. Evidence for a social role in a dolphin social network. *Evolutionary Ecology,* **21**(3): 357-366.

MacIntosh AJJ, Jacobs A, Garcia C, Shimizu K, Mouri K, Huffman MA, Hernandez AD. 2012. Monkeys in the middle: parasite transmission through the social network of a wild primate. *PLoS ONE,* **7**(12): e51144.

Madden JR, Drewe JA, Pearce GP, Clutton-Brock TH. 2009. The social network structure of a wild meerkat population: 2. Intragroup interactions. *Behavioral Ecology and Sociobiology,* **64**(1): 81-95.

Madden JR, Drewe JA, Pearce GP, Clutton-Brock TH. 2011. The social network structure of a wild meerkat population: 3. Position of individuals within networks. *Behavioral Ecology and Sociobiology,* **65**(10): 1857-1871.

Manno TG. 2008. Social networking in the Columbian ground squirrel, *Spermophilus columbianus*. *Animal Behaviour,* **75**(4): 1221-1228.

Matsuda I, Zhang P, Swedell L, Mori U, Tuuga A, Bernard H, Sueur C. 2012. Comparisons of intraunit relationships in nonhuman primates living in multilevel social systems. *International Journal of Primatology,* **33**(5): 1038-1053.

McCowan B, Anderson K, Heagarty A, Cameron A. 2008. Utility of social network analysis for primate behavioral management and well-being. *Applied Animal Behaviour Science,* **109**(2-4): 396-405.

McDonald DB. 2007. Predicting fate from early connectivity in a social network. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America,* **104**(26): 10910-10914.

Mitani M. 1986. Voiceprint identification and its application to sociological studies of wild Japanese monkeys (*Macaca fuscata yakui*). *Primates* **27**: 397–412.

Morrell LJ, Croft DP, Dyer JR, Chapman BB, Kelley JL, Laland KN, Krause J. 2008. Association patterns and foraging behaviour in natural and artificial guppy shoals. *Animal Behaviour,* **76**(3): 855-864.

Morris MR, Nicoletto PF, Hesselman E. 2003. A polymorphism in female preference for a polymorphic male trait in the swordtail fish *Xiphophorus cortezi*. *Animal Behaviour,* **65**(1): 45-52.

Nakagawa N. 1992. Distribution of affiliative behaviors among adult females within a group of wild patas monkeys in a nonmating, nonbirth season. *International Journal of Primatology* **13**: 73–96.

Naug D. 2008. Structure of the social network and its influence on transmission dynamics in a honeybee colony. *Behavioral Ecology and Sociobiology,* **62**(11): 1719-1725

Newman MEJ. 2003. The structure and function of complex networks. *Siam Review,* **45**(2): 167-256.

Oliveira RF, McGregor PK, Latruffe C. 1998. Know thine enemy: fighting fish gather information from observing conspecific interactions. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences,* **265**(1401): 1045-1049.

Ottoni EB, de Resende BD, Izar P. 2005. Watching the best nutcrackers: what capuchin monkeys (*Cebus paella*) know about other's tool-using skills. *Animal Cognition,* **8**(4): 215-219.

Pearl MC, Schulman RS. 1983. Techniques for the analysis of social structure in animal societies. *Advances in the Study of Behavior* **13**: 107–146.

Potterat JJ, Muth SQ, Rothenberg RB, Zimmerman-Rogers H, Green DL, Taylor JE, Bonney MS, White HA. 2002. Sexual network structure as an indicator of epidemic phase. *Sex Transmitted Infection,* **78**(S1): 152-158.

Ramos-Fernandez G, Boyer D, Aureli F, Vick LG. 2009. Association networks in spider monkeys (*Ateles geoffroyi*). *Behavioral Ecology and Sociobiology,* **63**(7): 999-1013.

Sade DS. 1965. Some aspects of parent-offspring and sibling relations in a group of rhesus monkeys, with a discussion of grooming. *American Journal of Physical Anthropology,* **23**: 1–17.

Sade DS. 1989. Sociometrics of *Macaca mulatta* III: n-path centrality in grooming networks. *Social Networks,* **11**(3): 273-292.

Sade SD. 1972. Sociometrics of *Macaca mulatta* I. Linkages and cliques in grooming matrices. *Folia Primatology* **18**: 196–223

Schel AM, Rawlings B, Claidiere N, Wilke C, Wathan J, Richardson J, Pearson S, Herrelko ES, Whiten A, Slocombe K. 2013. Network analysis of social changes in a captive chimpanzee community following the successful integration of two adult groups. *American Journal of Primatology,* **75**(3): 254-266.

Seyfarth RM. 1976. Social relationships among adult female baboons. *Animal Behaviour* **24**: 917–938.

Seyfarth RM. 1980. The distribution of grooming and related behaviours among adult female vervet monkeys. *Animal Behaviour* **28**: 798–813.

Sih A, Hanser SF, McHugh KA. 2009. Social network theory new insights and issues for behavioral ecologists. *Behavioral Ecology and Sociobiology,* **63**(7): 975-988.

Silk JB, Beehner JC, Bergman TJ, Crockford C, Engh AL, Moscovice LR, Wittig RM, Seyfarth RM, Cheney DL. 2009. The benefits of social capital: close social bonds among female baboons enhance offspring survival. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Science,* **276**(1670): 3099-3104.

Stanley CR, Dunbar RIM. 2013. Consistent social structure and optimal clique size revealed by social network analysis of feral goats, *Capra hircus*. *Animal Behaviour,* **85**(4): 771-779.

Sueur C, Petit O, Deneubourg J. 2010. Short-term group fission processes in macaques: a social networking approach. *Journal of Experimental Biology,* **213**(8): 1338-1346.

Sueur C, Petit O. 2008. Organization of group members at departure is driven by social structure in *Macaca*. *International Journal of Primatology,* **29**(4): 1085-1098.

Sundaresan SR, Fischhoff IR, Dushoff J, Rubenstein DI. 2007. Network metrics reveal differences in social organization between two fission–fusion

species, Grevy’s zebra and onager. *Oecologia,* **151**(6): 140-149.

Thierry B, Singh M, Kaumanns W. 2004. Macaque Societies: A model for the study of social organization. Cambridge: Cambridge University Press.

Valone TJ. 2007. From eavesdropping on performance to copying the behavior of others: a review of public information use. *Behavioral Ecology and Sociobiology,* **62**(1): 1-14.

Van Horn RC, Buchan JC, Altmann J, Alberts SC. 2007. Divided destinies: group choice by female savannah baboons during social group fission. *Behavioral Ecology and Sociobiology,* **61**(12): 1823-1837.

Voelkl B, Kasper C. 2009. Social structure of primate interaction networks facilitates the emergence of cooperation. *Biology Letters,* **5**(4): 462-464.

Voelkl B, Noë R. 2008. The influence of social structure on the propagation of social information in artificial primate groups: a graph-based simulation approach. *Journal of Theoretical Biology,* **252**(1): 77-86.

Watts DJ, Strogatz SH. 1998. Collective dynamics of ‘small-world’ networks. *Nature,* **393**(6684): 440-442.

Watts DJ. 2003. Six degrees: the science of a connected Age. New York: W. W. Norton.

Webb CR. 2005. Farm animal networks: unraveling the contact structure of the British sheep population. *Preventive Veterinary Medicine,* **68**(1): 3-17.

Wey T, Blumstein DT, Shen W, Jordan F. 2008. Social network analysis of animal behaviour: a promising tool for the study of sociality. *Animal Behaviour*, **75**(2): 333-344.

Whitehead H. 2009. SOCPROG programs: analysing animal social structures. *Behavioral Ecology and Sociobiology,* **63**(5): 765-778.

Wilson EO. 1975. The Sociobiology. Harvard: Harvard University Press.

Wittemyer G, Douglas-Hamilton I, Getz WM. 2005. The socioecology of elephants: analysis of the processes creating multitiered social structures. *Animal Behaviour,* **69**(6): 1357-1371.

Wolf JB, Mawdsley D, Trillmich F, James R. 2007. Social structure in a colonial mammal: unravelling hidden structural layers and their foundations by network analysis. *Animal Behaviour*, **74**(5): 1293-1302.

Yamagiwa J, Basabose AK, Kahekwa J, Bikaba D, Ando C, Matsubara M, Iwasaki N, Sprague DS. 2011. Long-term research on Grauer's gorillas in Kahuzi-Biega National Park, DRC: life history, foraging strategies, and ecological differentiation from sympatric chimpanzees. *In*: Kappeler PM, Watts DP. Long-Term Field Studies of Primates. New York: Springer, 385-412.

Zhang P, Li BG, Qi XG, MacIntosh AJJ, Watanabe K. 2012. A proximity-based social network of a group of Sichuan snub-nosed monkeys (*Rhinopithecus roxellana*). *International Journal of Primatology,* **33**(5): 1081-1095.

Zhang P, Li BG, Wada K, Tan CL, Watanabe K. 2003. Social structure of a group of Sichuan snub-nosed monkeys (*Rhinopithecus roxellana*)in the Qinling Mountains of China. *Acta Zoologica Sinica*, **49**(6): 727-735.

Zhang P, Watanabe K, Li BG, Qi XG. 2008. Dominance relationships among one-male units in a provisioned free-ranging band of the Sichuan snub-nosed monkeys(*Rhinopithecus roxellana*)in the Qinling Mountains, China. *American Journal of Primatology,* **70**(7): 634-641.

Zhang P. 2012. Monkeys, apes and humans: on the origin of human nature. Guangzhou: Sun Yat-sen University Press. [张鹏. 2012. 猿、猴、人：思考人类的本性. 广州: 中山大学出版社.]

动　物　学　研　究　2013，Dec. 34(6): 666−673　　CN 53-1040/Q　ISSN 0254-5853
Zoological Research　　DOI:10.11813/j.issn.0254-5853.2013.6.0666

鱼类线粒体 DNA 重排研究进展

龚　理[1,2]，时　伟[1]，司李真[1,2]，孔晓瑜[1,*]

1. 中国科学院南海海洋研究所 海洋生物资源可持续利用重点实验室，广东 广州 510301

2. 中国科学院大学，北京 100049

摘要：一般认为鱼类线粒体基因组在结构上具有高度的保守性，但是通过分析 NCBI 数据库中的 1 255 种鱼类线粒体基因组全序列（截至 2013 年 11 月 3 日），发现～52 种鱼线粒体基因组发生了重排。进一步的分析发现这些重排具有 3 种类型：滑移（shuffling）、移位（translocation）和倒置（inversion），并多发生于 WANCY 基因簇、IQM 基因簇、*ND6* 基因、控制区（D-loop）及其邻接基因等区域。该文根据已报道的 4 种常见的解释重排的模型：复制−随机丢失（duplication-random loss）、复制−非随机丢失（duplication-nonrandom loss）、线粒体内的重组（intramitochondrial recombination）以及由 tRNA 基因错误起始引起的复制（tRNA miss-priming model）解释了鱼类重排产生的可能机制，并探讨了重排现象在鱼类系统发生研究中的应用，以期为鱼类线粒体的进化研究提供科学依据。

关键词：mtDNA；移位；滑移；倒置；基因重排；系统发生
中图分类号：Q332　　**文献标志码**：A　　**文章编号**：0254-5853-(2013)06-0666-08

Rearrangement of mitochondrial genome in fishes

Li GONG[1,2], Wei SHI[1], Li-Zhen SI[1,2], Xiao-Yu KONG[1,*]

1. *Key Laboratory of Marine Bio-resources Sustainable Utilization*, *South China Sea Institute of Oceanology*, *Chinese Academy of Sciences*, *Guangzhou* 510301, *China*
2. *University of Chinese Academy of Sciences*, *Beijing* 100049, *China*

Abstract: Generally, the mitochondrial genome is characterized by the property of highly conserved organization. After comparing the 1,255 fish complete mitogenome sequences deposited in GenBank (as of Nov. 3, 2013), approximately 52 complete mitogenomes are found to have been rearranged. Of these species, three types of rearrangement—shuffling, translocation, and inversion—have been found. Further analysis shows that the sites of the rearrangements occur frequently in WANCY cluster, IQM cluster, *ND6* gene, control region (D-loop) and its adjacent genes. Based on the four models that explain the gene rearrangements commonly adopted by scientists, we attempted to infer the possible mechanisms for the three types of gene rearrangement as well as the application of gene rearrangement in phylogenetic studies.

Keywords: mtDNA; Translocation；Shuffling; Inversion; Gene rearrangement; Phylogenesis

鱼类线粒体基因组（mtDNA）通常为结构高度紧凑的双链闭合环状分子，长 15～20 kb。一般包括 13 个蛋白质编码基因、2 个 rRNA 基因及 22 个 tRNA 编码基因，两个主要的非编码区：一个是和线粒体复制和转录起始相关的控制区（D-loop），另一个是轻链复制起始区（O_L）。mtDNA 的两条链分别为重链 H 和轻链 L，其中 L 链仅编码 *ND6* 和 8 个 tRNA，其余基因皆由 H 链编码（Boore，1999）。

近年来，随着分子生物学技术不断向经典分类学领域渗透，以及鱼类 mtDNA 研究技术不断成熟，mtDNA 作为分子标记在鱼类系统学研究领域被广泛应用，例如在种群识别、谱系生物地理、进化与系统发育等研究领域（Bartlett & Davidson，1991；Dunz & Schliewen，2013；Mabuchi et al，2004；Miya et al，2003）。一般来说，鱼类线粒体基因组结构，尤其是在基因排列顺序上具有高度的保守

收稿日期：2013-08-19；接受日期：2013-11-08
基金项目：国家自然科学基金项目（30870283，31071890，41206134）
*通信作者（Corresponding author），E-mail: xykong@scsio.ac.cn
第一作者简介：龚理（1988−），男，博士，从事鱼类系统学与分子进化研究。E-mail：gongli1027@163.com

性，但是，随着鱼类 mtDNA 全序列数据的逐渐增加，不断有关于线粒体发生重排的报道（Gong et al，2013；Inoue et al，2003；Ishikawa et al，2000；Ki et al，2008；Kong et al，2009；Mabuchi et al，2004；Miya，1999；Sammler et al，2011），不过这些报道大都很分散，迄今对鱼类 mtDNA 重排现象还没有比较系统的研究。本文就已报道的鱼类线粒体基因组中发生的基因重排现象进行了系统的分类整理，并对 mtDNA 重排模型、可能的发生机制、常见的重排类型及重排现象在系统发生上的应用进行了探讨。

1 mtDNA 重排模型

基因重排现象在多数植物、真菌和原生生物中极为普遍（Baileyserres et al，1986；Guerineau et al，1975；Isaac et al，1985；Temple et al，1992），但是在以鱼类、两栖类和大多数哺乳动物为代表的脊椎动物中发现较晚（Hoarau et al，2002；Macey et al，1997；Thyagarajan et al，1996；Tsaousis et al，2005）。基因重排有多种形式，根据 mtDNA 可能的重排模型，迄今重排可分为滑移（shuffling）、移位（translocation）、倒置（inversion）三种类型。滑移是指基因在同一条链上从一个位置滑移到相邻位置（滑移的距离都很短,一般不跨越蛋白基因）；移位是指基因从原始位置跨过几个基因（通常包括蛋白编码基因）转座到不同的位置；倒置是指基因从一条链编码转换到另外一条链编码（通常都是由轻链编码转变为重链编码），发生倒置的基因在基因组上的排列位置变化不大。从最早提出复制–随机丢失模型（duplication-random loss）至今，不同的研究者针对不同的重排现象，先后提出了新的重排模型。有关线粒体重排模型主要有 4 种假说：复制–随机丢失（duplication-random loss）（Moritz & Brown，1987）、复制–非随机丢失（duplication-nonrandom loss）（Lavrov et al，2002）、线粒体内的重组（intramitochondrial recombination）（Poulton et al，1993）以及由 tRNA 基因错误起始引起的复制（tRNA miss-priming model）（Cantatore et al，1987；Jacobs et al，1989）。

1.1 复制–随机丢失模型（duplication-random loss）

Moritz & Brown（1987）针对蜥蜴的基因排序，首次提出该模型，随后 Macey et al（1997）和 Boore & Brown（1998）又分别对该机制做了一定修改和补充。该模型假设，由于 mtDNA 复制错误，通过滑链错配（slipped-strandmispairing）或者非精确终止（imprecise termination）产生多基因的重复。随后，由于自然选择的作用，随机丢失重复基因中的某个基因，从而形成基因的重排（图 1）。该模型可解释基因片段的插入和缺失、长度异质性和 tRNA 串联重复拷贝等现象，但是该模型只是在 tRNA 中找到了串联重复的例证（Boore，2000；Dowton et al，2003；Liu et al，2005；Mabuchi et al，2004），对于较大的蛋白编码基因和一些发生倒置的基因重排则难以进行合理的解释。

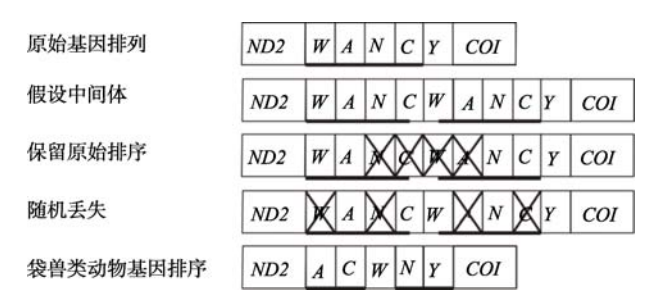


图 1 复制-随机丢失模型（改自 Boore et al，1998）
Figure 1 Duplication-random loss model(Revised from Boore et al, 1998)

1.2 复制–非随机丢失（duplication-nonrandom loss）

Lavrov et al（2002）在研究两种千足虫的基因排列时提出该重排模型。首先整个基因组发生串联重复，形成由两个同向排列的单体首尾相接的环状二聚体，随后其中一套转录启动子失去功能，导致一种转录极性的基因从一个拷贝中丢失，而另一种转录极性的基因则从另一个拷贝中丢失，这样重复的基因就发生丢失。但这种丢失是非随机的，它取决于基因的转录极性和位置（图 2）。该模型能够很好地解释在多足类、双翅目及青缨鲆（*Crossorhombus azureus*）等物种中相同极性的基因聚在一起的特殊现象（Beckenbach，2012；Podsiadlowski et al，2007；Shi et al，2013）。

1.3 线粒体内的重组（intramitochondrial recombination）

Poulton et al（1993）在研究病人线粒体时首次提出了线粒体内重组模型；Lunt & Hyman（1997）首次报道了一种线虫线粒体 DNA 发生重组的实验证据。该模型假设，当一个完整的线粒体基因组 3 个（或以上）位点同时断裂，断裂形成的片段在重新接回原基因组时若顺序发生变化即可导致基因重排。重组的关键是双链的断裂和重新连接，重

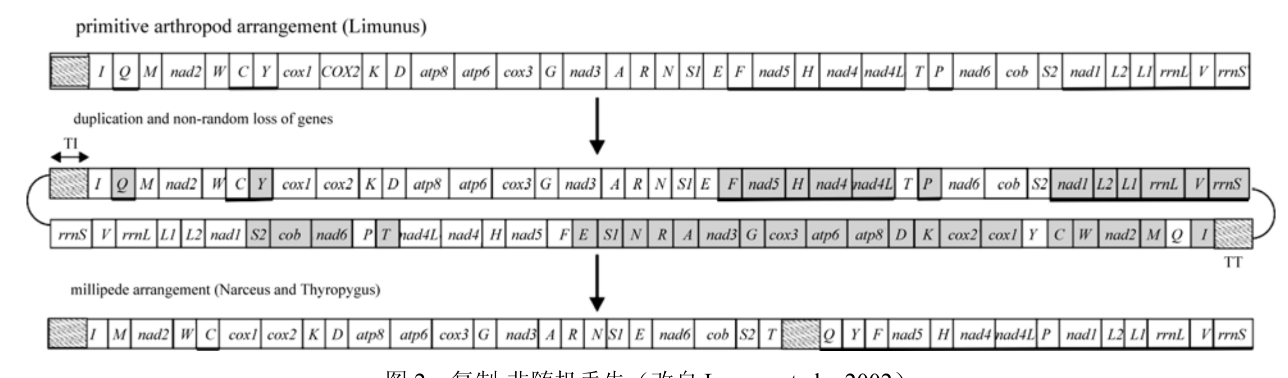


图 2　复制-非随机丢失（改自 Lavrov et al，2002）
Figure 2　Duplication-nonrandom loss model (Revised from Lavrov et al, 2002)

组产物有 3 种可能（图 3）：（a）大环和小环；（b）未变化的基因组；（c）含有一个短的倒转片段的基因组。传统的复制−随机丢失模型不涉及链的断裂，但基因倒置和大片段基因与其邻接基因间的位置互换等现象若不联系重组就很难进行解释。该模型很好地解释了在半滑舌鳎线粒体基因组中 *tRNA*^{Gln} 基因倒置及控制区发生远距离移位现象（Kong et al，2009）。

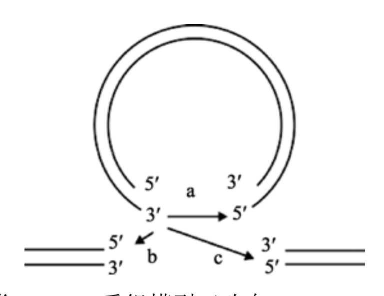


图 3　鱼类 mtDNA 重组模型（改自 Poulton et al，1993）
Figure 3　Intramitochondrial recombination model (Revised from Poulton et al, 1993)

1.4　tRNA 基因错误起始引发的复制（tRNA miss-priming model）

Cantatore et al（1987）在研究海胆时首次提出由 tRNA 错误起始引发的 mtDNA 复制模型。该模型假设，tRNA 可以作为复制起点引发 mtDNA 复制，但是在新生的 DNA 链上不能被删除。这样，到下一个复制周期，这个 tRNA 就有可能作为模板而被复制（由 RNA 依赖的 DNA 聚合酶完成），其结果是该 tRNA 基因就有可能被组并到线粒体基因组的复制起点，从而导致线粒体复制错误产生的重排现象。目前，在鱼类线粒体基因组里暂时没有发现较好的证据来支持该模型。

2　鱼类 mtDNA 重排类型及特点

自从 Miya & Nishida（1999）发现第一例鱼类 tRNA 基因重排以来，有关鱼类线粒体重排的报道甚少（Inoue et al，2003；Ishikawa et al，2000；Zhuang & Cheng，2010）。鉴于目前鲽形目研究中发现的倒置重排现象（Gong et al，2013；Kong et al，2009），我们想进一步了解整个鱼类线粒体重排现象的状况，因此，通过对 NCBI 数据库中 1 255 种鱼类线粒体基因组全序列（截至 2013 年 11 月 3 日，其中硬骨鱼类 1 219 种，软骨鱼类 36 种）的比较，发现大约 52 种硬骨鱼类线粒体基因组发生了重排，软骨鱼类未见重排（表 1）。本研究通过分析这些重排现象，对其重排类型和可能的发生机制进行了研究，以期为鱼类线粒体的进化研究提供科学依据。

2.1　移位（translocation）

在发现的 52 种具有重排的鱼类中，发生移位现象的种类有 36 种（～69%）。分析发现移位的基因既可以只发生在控制区、tRNA 基因和蛋白编码基因，也可以同时发生在两个（或以上）的区域。例如控制区发生移位的有宽头深海鼠鳕（*Bathygadus antrodes*）、密刺角鮟鱇（*Cryptopsaras couesii*）和毛杜父鱼（*Clinocottus analis*），其部分控制区移位至 *16S* RNA 和 *ND1* 基因之间（Miya et al，2010；Satoh et al，2006）；tRNA 基因发生移位的有纤钻光鱼（*Gonostoma gracile*）的 *tRNA*^{Thr} 和 *tRNA*^{Pro} 基因位置发生互换，同时 *tRNA*^{Glu} 也移位至 *CytB* 的 3′端，这是鱼类首例 tRNA 基因重排现象（Miya & Nishida,1999）；此外，长尾鳕（*Coelorinchus kishinouyei*）的 *tRNA*^{Glu} 移位到控制区的 5′端，月尾鳗（*Cyema atrum*）的 *tRNA*^{Ile} 移位到 *tRNA*^{Phe} 和 *12S* RNA 之间等（Inoue et al，2010；Miya & Nishida，1999；Miya et al，2003）；蛋白编码基因发生移位的有光蟾鱼（*Porichthys myriaster*）的 *ND2* 和 *COI*

表 1　鱼类线粒体基因重排信息表

Table 1　Information on rearrangement of mitochondrial genome in fishes

分类地位 Classification	名称 Species	GenBank 号 Accession No.	类型 Type	分类地位 Classification	名称 Species	GenBank 号 Accession No.	类型 Type
Anguilliformes	*Eurypharynx pelecanoides*	NC_005299	移位	Gadiformes	*Coelorinchus kishinouyei*	NC_003169	移位
	Monognathus jesperseni	NC_013612	移位、倒置	Ophidiiformes	*Carapus bermudensis*	NC_004373	…
	Saccopharynx lavenbergi	NC_005298	移位		*Galaxiella nigrostriata*	NC_008448	…
	Conger myriaster	NC_002761	…	Batrachoidiformes	*Porichthys myriaster*	NC_006920	…
	Ophisurus macrorhynchos	NC_005802	…	Lophiiformes	*Ceratias uranoscopus*	NC_013882	…
	Heteroconger hassi	NC_013629	…		*Cryptopsaras couesii*	NC_013880	…
	Coloconger cadenati	NC_013606	…		*Tetrabrachium ocellatum*	NC_013879	…
	Paraconger notialis	NC_013630	…	Cyprinodontiformes	*Nothobranchius furzeri*	NC_011814	…
	Nettastoma parviceps	NC_013625	…		*Xenotoca eiseni*	NC_011381	滑移
	Leptocephalus sp.	NC_013615	…	Gasterosteiformes	*Aulostomus chinensis*	NC_010269	移位
	Cyema atrum	NC_013609	…		*Aulorhynchus flavidus*	NC_010268	滑移
	Facciolella oxyrhyncha	NC_013621	…	Scorpaeniformes	*Clinocottus analis*	NC_013828	移位
	Muraenesox bagio	NC_013614	…	Perciformes	*Halichoeres tenuispinis*	NC_011191	…
	Myrichthys maculosus	NC_013635	…		*Hypoplectrus gemma*	NC_013832	…
	Nessorhamphus ingolfianus	NC_013608	…		*Pleuragramma antarctica*	NC_015652	…
Stomiiformes	*Chauliodus sloani*	NC_003159	移位、滑移		*Morone saxatilis*	NC_014353	…
	Sigmops gracilis	NC_002574	…		*Dissostichus eleginoides*	NC_018135	…
Myctophiformes	*Myctophum affine*	NC_003163	滑移		*Chionodraco myersi*	NC_010689	…
	Diaphus splendidus	AP002923	…		*Notothenia coriiceps*	NC_015653	…
	Myctophum affine	AP002922	…		*Scarus schlegeli*	NC_011936	滑移
	Myctophum nitidulum	AP012255	…		*Trachinops taeniatus*	NC_017900	…
	Myctophum orientale	AP012254	…		*Chlorurus sordidus*	AP006567	…
	Myctophum punctatum	AP012239	…		*Odontobutis platycephala*	DQ010651	…
	Myctophum asperum	AP012234	…	Pleuronectiformes	*Paraplagusia japonica*	NC_021376	滑移、倒置
Gadiformes	*Bathygadus antrodes*	NC_008222	移位		*Cynoglossus semilaevis*	NC_012825	…
	Bregmaceros nectabanus	NC_008124	…		*Cynoglossus abbreviatus*	NC_014881	…

物种分类地位采用 Nelson（2006）分类系统；“…”代表“同上”。

The species in this table is based on Nelson’s (2006) classification system; “…” refers to the same with above.

基因都移至 *ND4* 和 *ND6* 基因之间。研究发现单个基因发生移位的现象比较少见，大部分移位现象同时发生在两个（或以上）基因，例如芒光灯笼鱼（*Myctophum affinec*）、星康吉鳗（*Conger myriaster*）、南极鱼（*Antarctic notothenioids*）等 13 种鱼的 *ND6* 和 $tRNA^{Glu}$ 一起移至控制区内（Inoue et al，2001；Miya et al，2003；Zhuang & Cheng，2010）；隆背躄鱼（*Tetrabrachium ocellatum*）的控制区、ANCY 基因簇（$tRNA^{Ala}$-$tRNA^{Asn}$-$tRNA^{Cys}$ -$tRNA^{Tyr}$）以及其下游的 *COI* 基因和 $tRNA^{Ser}$ 基因一起移至 $tRNA^{Gly}$ 的 3′端（Miya et al，2010）。

2.2 滑移（shuffling）

在这些发生重排的鱼类中，有 18 种鱼发生了滑移现象（大概 35%）。发生滑移的基因主要位于 IQM（$tRNA^{Ile}$-$tRNA^{Gln}$-$tRNA^{Met}$）、WANCY（$tRNA^{Trp}$-$tRNA^{Ala}$-$tRNA^{Asn}$-$tRNA^{Cys}$-$tRNA^{Tyr}$）以及 HSL（$tRNA^{His}$-$tRNA^{Ser}$-$tRNA^{Leu}$）三个基因簇间。例如在 IQM 基因簇发生滑移有灯笼鱼（*Diaphus splendidus*）和鹦嘴鱼（*Chlorurus sordidus*）的 Q 和 M 位置互换（Mabuchi et al，2004；Miya et al，2003;）；蝰鱼（*Chauliodus sloani*）和芒光灯笼鱼（*Myctophum affine*）等的 C 和 Y 位置发生互换，而条纹粗眼鲶（*Trachinops taeniatus*）则是 N 和 A 位置互换，即经典的 WANCY 基因簇变成 WANYC 或者 WNACY 排序（Miya et al，2001）；平头沙塘鳢（*Odontobutis platycephala*）的 $tRNA^{His}$ 滑移至 $tRNA^{Leu}$ 的 3′端，经典的 HSL 排序变成 SLH 排序（Ki et al，2008）等。

2.3 基因倒置（inversion）

根据 GenBank 数据的结果，可以发现许多公布的 mtDNA 全序列中存在 tRNA 倒置现象，但是分析发现绝大多的数倒置现象都是因为注释错误引起的（Kong et al，2009）。目前为止，仅发现 4 例倒置现象（大概 8%）。已报道发生基因倒置现象的鱼类有半滑舌鳎（*Cynoglossus semilaevis*）和日本须鳎（*Paraplagusia japonica*）两种，其 $tRNA^{Gln}$ 基因由轻链编码转变为重链编码，这也是鱼类线粒体基因组中首例倒置现象（Gong et al，2013；Kong et al，2009）；此外，分析 GenBank 数据发现短吻三线舌鳎（*Cynoglossus abbreviatus*，GenBank 号：NC_014881）的基因也发生了和以上两种鱼类一样的倒置现象，而杰氏单颌鳗（*Monognathus jesperseni*，GenBank 号：NC_013612）的 $tRNA^{Ala}$ 和 $tRNA^{Cys}$ 基因均由轻链编码转变为重链编码。

2.4 多类型重排

基因在发生重排过程中，很少只涉及单类型重排，一般都是几种重排类型同时发生。移位通常伴随着滑移或者倒置，如在以半滑舌鳎（*Cynoglossus semilaevis*）为代表的舌鳎亚科中，大部分控制区移位至 *ND1* 的 3′端的，且 Q 基因由正常的轻链编码转变为重链编码，同时伴随着 I 基因滑链现象，导致基因重排（Kong et al，2009）；蝰鱼（*Chauliodus sloani*）的部分控制区移位至 C 基因的 5'端，同时伴随着 C 和 Y 基因滑链，正常的 WANCY 基因簇变成 WANYC 排序（Miya et al，2003）；此外，杰氏单颌鳗（*Monognathus jesperseni*）、囊鳃鳗（*Saccopharynx lavenbergi*）、宽咽鱼（*Eurypharynx pelecanoides*）等深海底栖鱼类可能由于自然选择的作用，发生多处移位、滑移或者倒置等基因组水平上的重排现象（Inoue et al，2003，2010）。

总结以上基因重排现象，不难发现 WANCY 基因簇、IQM 基因簇、*ND6* 基因、控制区（D-loop）及其邻接基因等是基因重排的主要发生区域，且这些区域也将成为以后 mtDNA 研究的热点。

3 鱼类 mtDNA 重排可能的机制

随着 mtDNA 重排现象不断被发现，不同的重排模型先后提出来解释重排的产生。为了更好地理解以上鱼类重排的模型以及各模型之间的异同，我们对其发生的机制进行了推测。这些鱼类的滑移现象用复制随机丢失模型可以得到很好的解释。复制随机丢失过程中一般存在不完全删除，所以重排后会出现由重复基因退化后而产生的假基因或者非编码序列，如鹦嘴鱼 IQM 重排成 IMQ 后，$tRNA^{Gln}$（Q）基因后面出现了一段类似于 $tRNA^{Met}$（M）基因的非编码区，即 $tRNA^{Met}$ 假基因（ψM）；蝰鱼的 WANCY 基因簇变成 WANYC 排序之后，$tRNA^{Tyr}$（Y）基因和 $tRNA^{Cys}$（C）基因之间出现了一段 94bp 的非编码序列。倒置和长距离的移位可以用重组模型来解释。重组模型不涉及复制和删除，因而不会出现假基因或者长的非编码序列，如半滑舌鳎的控制区从原始位置移位到 *ND1* 和 $tRNA^{Gln}$ 基因之间，却没有留下任何重排基因的残迹；细棘海猪鱼（*Halichoeres tenuispinis*）的 $tRNA^{Trp}$ 和 $tRNA^{Ala}$ 基因之间插入了移位而来的 $tRNA^{Gly}$ 基因，中间仅有 1 bp 基因间隔（GenBank 号：NC_011191）。复制非

随机丢失取决于基因的转录极性和位置，重排过程中相同极性的基因聚在一起，如青缨鲆中除 *tRNA*^{Asn} 外，所有的轻链编码基因都聚在了控制区附近并保持原有的基因排序 (Shi et al，2013)。迄今，在鱼类线粒体基因组重排现象中暂时还没有发现可以用由 tRNA 基因不正当起始引发的复制模型来解释的例子，并且对于基因组水平上发生重排的现象，目前则还没有一个比较合适的模型，需要结合多种模型或者提出更合适的模型来解释。

4 基因重排与系统发生

近年来，随着线粒体基因组全序列数据不断积累，越来越多的重排现象被发现。这些重排现象可能含有对系统发育有用的信息，这一点在绝大多数脊椎动物得到了大量证据的支持（Haring et al，2001；Inoue et al，2001，2003；Kong et al，2009；Kumazawa & Nishida，1995，1999），但是在一些无脊椎动物及少数脊椎动物里面，基因重排并不能作为系统进化的依据（Dowton & Austin，1999；Flook et al，1995；Mindell et al，1998；Xu et al，2012）。在鱼类里面，线粒体基因重排为系统发生关系提供了重要的信息，这也可能将成为以后解决具有争议的系统发生关系的有力工具。

Inoue et al（2001）发现在星康吉鳗（*Conger myriaster*）mtDNA 中存在基因重排现象，通过测定、对比鳗鲡目另外 22 科的代表物种的 *ND5* 至 *Cytb* 区域的基因序列，结果显示有 4 个与星康吉鳗同属一个亚目的物种 mtDNA 基因排列顺序与星康吉鳗相同，表明这 5 个科的动物起源于同一个祖先，该结果在用 *12S* rRNA 和 *Cytb* 基因序列进行的系统发生分析中得到了进一步的证实。

Mabuchi et al（2004）在研究鹦嘴鱼（*Chlorurus sordidus*）mtDNA 时发现经典的 IQM 顺序变成了 IMQ 顺序，并在此基础上，选择隆头鱼科（Labridae）和岩鱼科（Odacidae）作外类群构建进化树，结果表明在鹦嘴鱼科（Scaridae）的进化过程中都共同出现了基因滑移现象及 *tRNA*^{Met} 假基因（ψM）。

Kong et al（2009）测定了半滑舌鳎（*Cynoglossus semilaevis*）的 mtDNA 全序列，并发现了基因重排现象，通过比较带纹条鳎、日本须鳎、中华舌鳎和东方无线鳎 Cytb～12*S* rRNA 和 *ND1*～*ND2* 这两个在半滑舌鳎 mtDNA 中存在重排现象的片段，结果是舌鳎亚科的日本须鳎和中华舌鳎出现重排，而带纹条鳎（鳎科）和东方无线鳎（无线鳎亚科）基因排序和其他硬骨鱼一样具有经典的基因排序，从而推测舌鳎亚科很可能是一个单系类群，这与形态学上的结果保持一致。

虽然基因重排为鱼类系统进化提供了有用的信息，但是由于现有的重排现象非常有限及研究的类群也较少，目前应用基因重排现象研究鱼类的系统进化还未见报道。并且基因重排不存在分子钟，即在很长的时期内可能没有任何重排发生，而在某段时期则快速变化，因此共享的排列可能是由于存在共同的祖先，也可能是由于发生过量的重排所致，有必要对这两种情况加以区分（Yi，2007）。

毋容置疑，mtDNA 重排蕴涵了物种进化过程中非常重要的遗传信息，基因重排能够非常有效地反映物种遗传分化、系统发生等信息（Hoarau et al，2002；Lunt & Hyman，1997；Meyer，1994；Stechmann & Schlegel，1999），但在利用 mtDNA 的重排信息来重建系统进化关系上仍存在很多的制约因素，如何利用好隐藏在基因重排现象背后的遗传信息，这是当前 mtDNA 研究急需解决的问题。由于目前人们对鱼类系统发生重建的研究还不够深入，尤其是对鱼类 mtDNA 重排分子过程和机制缺乏系统的研究以及对倍增序列形成的特殊二级结构在基因删除中的作用等所知无几，因而在这方面的科研工作任重道远。

参考文献：

Baileyserres J, Hanson DK, Fox TD, Leaver CJ. 1986. Mitochondrial genome rearrangement leads to extension and relocation of the cytochrome c oxidase subunit I gene in sorghum. *Cell,* **47**(4):567-576.

Bartlett SE, Davidson WS. 1991. Identification of Thunnus tuna species by the polymerase chain reaction and direct sequence analysis of their mitochondrial cytochrome b genes. *Canadian Journal of Fisheries Aquatict Sciences,* **4**8(2):309-317.

Beckenbach AT. 2012. Mitochondrial genome sequences of Nematocera (lower Diptera):evidence of rearrangement following a complete genome duplication in a winter crane fly. *Genome Biology Evolution,* **4**(2):89-101.

Boore JL. 1999. Animal mitochondrial genomes. *Nucleic Acids Research,* **27**(8):1767-1780.

Boore JL. 2000. The duplication/random loss model for gene rearrangement exemplified by mitochondrial genomes of deuterostome animals.

Comparative Genomics, **1**:133-147.

Boore JL, Brown WM. 1998. Big trees from little genomes：mitochondrial gene order as a phylogenetic tool. *Current Opinion Genetics Development,* **8**(6):668-674.

Cantatore P, Gadaleta MN, Roberti M, Saccone C, Wilson AC. 1987. Duplication and remoulding of tRNA genes during the evolutionary rearrangement of mitochondrial genomes. *Nature,* **329**(6142):853-855.

Dowton M, Austin AD. 1999. Evolutionary dynamics of a mitochondrial rearrangement "hotspot" in the Hymenoptera. *Molecular Biology Evolution,* **16**(2):298–309.

Dowton M, Castro LR, Campbell SL, Bargon SD, Austin AD. 2003. Frequent mitochondrial gene rearrangements at the hymenopteran nad3–nad5 junction. *Journal of Molecular Evolution,* **56**(5):517-526.

Dunz AR, Schliewen UK. 2013. Molecular phylogeny and revised classification of the haplotilapiine cichlid fishes formerly referred to as "Tilapia". *Molecular Phylogenetics Evolution,* **68**(1):64-80.

Flook P, Rowell H, Gellissen G. 1995. Homoplastic rearrangements of insect mitochondrial tRNA genes. *Naturwissenschaften,* **82**(7):336-337.

Gong L, Shi W, Wang Z, Miao X, kong X. 2013. Control region translocation and a tRNA gene inversion in the mitogenome of *Paraplagusia japonica*(Pleuronectiformes：Cynoglossidae). *Mitochondrial DNA,* **24**(6):671-673.

Guerineau M, Grandchamp C, Slonimski PP. 1975. Rearrangement of mitochondrial DNA molecules during the differentiation of mitochondria in yeast：I. —Electron microscopic studies of size and shape. *Biochimie,* **57**(8):917-929.

Haring E, Kruckenhauser L, Gamauf A, Riesing MJ, Pinsker W. 2001. The complete sequence of the mitochondrial genome of *Buteo buteo*(Aves, Accipitridae)indicates an early split in the phylogeny of raptors. *Molecular Biolog Evolution,* **18**(10):1892-1904.

Hoarau G, Holla S, Lescasse R, Stam WT, Olsen JL. 2002. Heteroplasmy and Evidence for Recombination in the Mitochondrial Control Region of the Flatfish *Platichthys flesus*. *Molecular Biology and Evolutio,* **19**(12):2261-2264.

Inoue JG, Miya M, Tsukamoto K, Nishida M. 2001. Complete mitochondrial DNA sequence of *Conger myriaster*(Teleostei：Anguilliformes):novel gene order for vertebrate mitochondrial genomes and the phylogenetic implications for anguilliform families. *Journal of Molecular Evolution,* **52**(4):311-320.

Inoue JG, Miya M, Miller MJ, Sado T, Hanel R, Hatooka K, Aoyama J, Minegishi Y, Nishida M, Tsukamoto K. 2010. Deep-ocean origin of the freshwater eels. *Biology Letters,* **6**(3):363-366.

Inoue JG, Miya M, Tsukamoto K, Nishida M. 2003. Evolution of the deep-sea gulper eel mitochondrial genomes：large-scale gene rearrangements originated within the eels. *Molecular Biology Evolution,* **20**(11):1917-1924.

Isaac PG, Jones VP, Leaver CJ. 1985. The maize cytochrome coxidase subunit I gene：sequence, expression and rearrangement in cytoplasmic male sterile plants. *EMBO Journal,* **4**(7):1617-1623.

Ishikawa S, Kimura Y, Tokai T, Tsukamoto K, Nishida M. 2000. Gene rearrangement around the control region in the mitochondrial genome of conger eel *Conger myriaster*. *Fisheries Science,* **66**(6):1186-1188.

Jacobs HT, Herbert ER, Rankine J. 1989. Sea urchin egg mitochondrial DNA contains a short displacement loop(D-loop)in the replication origin region. *Nucleic Acids Research,* **17**(22):8949-8965.

Ki JS, Jung SO, Hwang DS, Lee YM, Lee JS. 2008. Unusual mitochondrial genome structure of the freshwater goby *Odontobutis platycephala*：rearrangement of tRNAs and an additional non-coding region. *Journal of Fish Biology,* **73**(2):414-428.

Kong XY, Dong XL, Zhang YC, Shi W, Wang ZM, Yu ZN. 2009. A novel rearrangement in the mitochondrial genome of tongue sole, *Cynoglossus semilaevis*：control region translocation and a tRNA gene inversion. *Genome,* **52**(12):975-984.

Kumazawa Y, Nishida M. 1995. Variations in mitochondrial tRNA gene organization of reptiles as phylogenetic markers. *Molecular Biology Evolution,* **12**(5):759-772.

Kumazawa Y, Nishida M. 1999. Complete mitochondrial DNA sequences of the green turtle and blue-tailed mole skink：statistical evidence for archosaurian affinity of turtles. *Molecular Biology Evolution,* **16**(6):784-792.

Lavrov DV, Boore JL, Brown WM. 2002. Complete mtDNA sequences of two millipedes suggest a new model for mitochondrial gene rearrangements：Duplication and nonrandom loss. *Molecular Biology Evolution,* **19**(2):163-169.

Liu ZQ, Wang YQ, Su B. 2005. The mitochondrial genome organization of the rice frog, *Fejervarya limnocharis*(Amphibia：Anura):a new gene order in the vertebrate mtDNA. *Gene,* **346**：145-151.

Lunt DH, Hyman BC. 1997. Animal mitochondrial DNA recombination. *Nature,* **387**(6630):247.

Mabuchi K, Miya M, Satoh TP, Westneat MW, Nishida M. 2004. Gene rearrangements and evolution of tRNA pseudogenes in the mitochondrial genome of the parrotfish(Teleostei：Perciformes：Scaridae). *Journal of Molecular Evolution,* **59**(3):287-297.

Macey JR, Larson A, Ananjeva NB, Fang Z, Papenfuss TJ. 1997. Two novel gene orders and the role of light-strand replication in rearrangement of the vertebrate mitochondrial genome. *Molecular Biology Evolution,* **14**(1):91-104.

Meyer A. 1994. DNA technology and phylogeny of fish. *In*：Genetics and Evolution of Aquatic Organisms. London：Chapman and Hall, 219-249.

Mindell DP, Sorenson MD, Dimcheff DE. 1998. Multiple independent origins of mitochondrial gene order in birds. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America,* **95**(18):10693-10697.

Miya M, Kawaguchi A, Nishida M. 2001. Mitogenomic exploration of higher teleostean phylogenies：a case study for moderate-scale evolutionary genomics with 38 newly determined complete mitochondrial DNA sequences. *Molecular Biology and Evolution,* **18**(11):1993-2009.

Miya M, Nishida M. 1999. Organization of the mitochondrial genome of a deep-sea fish, *Gonostoma gracile*(Teleostei：Stomiiformes):first example of transfer RNA gene rearrangements in bony fishes. *Marine Biotechnology,* **1**(5):416-426.

Miya M, Pietsch TW, Orr JW, Arnold RJ, Satoh TP, Shedlock AM, Ho HC, Shimazaki M, Yabe M, Nishida M. 2010. Evolutionary history of anglerfishes(Teleostei：Lophiiformes):a mitogenomic perspective. *BMC Evolutionary Biology,* **10**(1):58.

Miya M,Takeshima H,Endo H,Ishiguro NB,Inoue JG,Mukai T,Satoh TP,Yamaguchi M,Kawaguchi A,Mabuchi K,Shirai SM,Nishida M. 2003. Major patterns of higher teleostean phylogenies:a new perspective based on 100 complete mitochondrial DNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*,**26**(1):121-138.

Moritz C,Brown WM. 1987. Tandem duplications in animal mitochondrial DNAs:variation in incidence and gene content among lizards. *Proceedings of the National Academy Sciences of the United States of America*,**84**(20):7183-7187.

Podsiadlowski L,Kohlhagen H,Koch M. 2007. The complete mitochondrial genome of *Scutigerella causeyae*(Myriapoda:Symphyla)and the phylogenetic position of Symphyla. *Molecular Phylogenetics and Evolution*,**45**(1):251-260.

Poulton J,Deadman ME,Bindoff L,Morten K,Land J,Brown G. 1993. Families of mtDNA re-arrangements can be detected in patients with mtDNA deletions:duplications may be a transient intermediate form. *Human Molecular Genetics*,**2**(1):23-30.

Sammler S,Bleidorn C,Tiedemann R. 2011. Full mitochondrial genome sequences of two endemic *Philippine hornbill* species(Aves:Bucerotidae) provide evidence for pervasive mitochondrial DNA recombination. *BMCGenomics*,**12**(1):35.

Satoh TP,Miya M,Endo H,Nishida M. 2006. Round and pointed-head grenadier fishes(Actinopterygii:Gadiformes)represent a single sister group:Evidence from the complete mitochondrial genome sequences. *Molecular Phylogenetics andEvolution*,**40**(1):129-138.

Shi W,Dong XL,Wang ZM,Miao XG,Wang SY,Kong XY. 2013. Complete mitogenome sequences of four flatfishes(Pleuronectiformes)reveal a novel gene arrangement of L-strand coding genes. *BMC Evolutionary Biology*,**13**(1):1-9.

Stechmann A,Schlegel M. 1999. Analysis of the complete mitochondrial DNA sequence of the brachiopod Terebratulina retusa places Brachiopoda within the protostomes. *Proceedings of the Royal Society of London Series B:Biologica Sciences*,**266**(1433):2043-2052.

Temple M,Makaroff CA,Mutschler MA,Earle ED. 1992. Novel mitochondrial genomes in *Brassica napus* somatic hybrids. *Current Genetics*,**22**(3):243-249.

Thyagarajan B,Padua RA,Campbell C. 1996. Mammalian mitochondria possess homologous DNA recombination activity. *Journal of Biological Chemistry*,**271**(44):27536-27543.

Tsaousis AD,Martin DP,Ladoukakis ED,Posada D,Zouros E. 2005. Widespread recombination in published animal mtDNA sequences. *Molecular Biology and Evolution*,**22**(4):925-933.

Xu XD,Wu XY,Yu ZN. 2012. Comparative studies of the complete mitochondrial genomes of four Paphia clams and reconsideration of subgenus Neotapes(Bivalvia:Veneridae). *Gene*,**494**(1):17-23.

Yi SV. 2007. Understanding neutral genomic molecular clocks. *Evolutionary Biology*,**34**(3-4):144-151.

Zhuang X,Cheng CHC. 2010. ND6 gene “lost” and found:evolution of mitochondrial gene rearrangement in Antarctic notothenioids. *Molecular Biology andEvolution*,**27**(6):1391-1403.

动 物 学 研 究 2013，Dec. 34(6): 674−679 CN 53-1040/Q ISSN 0254-5853
Zoological Research DOI:10.11813/j.issn.0254-5853.2013.6.0674

鱼类体表粘液凝集素研究进展

黄智慧[1,2]，马爱军[2,*]，雷霁霖[2]

1. 中国海洋大学 水产学院，山东 青岛 266003
2. 中国水产科学研究院黄海水产研究所 农业部海洋渔业资源可持续利用重点开放实验室，青岛市海水鱼类种子工程与生物技术重点实验室，山东 青岛 266071

摘要：鱼类体表粘液是保护鱼体与水环境接触的一道物理和化学屏障，除包围入侵微生物外，还含有抗菌物质。其中，凝集素作为不同于免疫球蛋白且不具酶催化活性的糖蛋白，为体表粘液中所含有的重要免疫活性物质，在保护鱼体免遭外界环境中的病菌、寄生物和病毒侵袭中至关重要。该文以鱼类体表粘液凝集素为研究对象，结合国内、外研究成果，对其研究简史、分类、生物学性质和功能等进行阐述，为其今后的研究及应用提供参考。

关键词：体表粘液；凝集素；免疫；功能；分类
中图分类号：Q26；Q959.4 **文献标志码**：A **文章编号**：0254-5853-(2013)06-0674-06

Progress in study on the skin mucus lectin in fish

Zhi-Hui HUANG[1,2], Ai-Jun MA[2,*], Ji-Lin LEI[2]

1. *Ocean University of China, Fisheries College, Qingdao,* 266003, *China*
2. *Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fisheries Sciences, Qingdao Key Laboratory for Marine Fish Breeding and Biotechnology, Qingdao,* 266071, *China*

Abstract: Since water is a perfect medium for both bacteria and parasitic microbes, fish skin is constantly exposed to pathogen attacks. It is generally believed that skin mucus serves a mechanical as well as biochemical barrier. Lectins, an important part of the mucus, are carbohydrate-binding proteins that are neither antibodies nor enzymes, yet play important roles in innate and adaptive immunity. Based on the structure of the carbohydrate recognition domain (CRD) and their function, fish mucus lectins are classified as four types. Recent research has shed light on the structural diversity and functions in innate immunity of mucus lectins. Here, we reviewed recent research progress on the classification, biological properties and functions of fish mucus lectins. Analyses on other fish species are therefore important in clarifying lectin diversity and their functions in skin mucus.

Keywords: Skin mucus; Lectins; Immunity; Function; Type

鱼类皮肤上皮组织中分布有大量粘液细胞，所分泌粘液广泛覆盖在鱼体表面构成其与外界直接接触的第一道门户，在保护鱼体免遭外界环境中的病菌、寄生物和病毒侵袭中至关重要（Huang et al, 2009）。普遍认为体表粘液中含有抵抗病原微生物入侵的非特异性免疫活性物质，尤其自 1969 年，Fletcher & Grant（1969）提出在血清和粘液中均存在免疫球蛋白后，国、内外研究者对鱼类粘液的免疫功能产生了浓厚兴趣。不断有学者证实鱼类体表分泌物中存在补体、溶菌酶、凝集素、C-反应体、溶血素、抗菌肽及白细胞介素 IL-1 等多种生物活性因子（Alexander & Ingram, 1992; Buchman & Bresciani, 1998; Ingram, 1980）。凝集素作为具有糖专一性、可促进细胞凝集的糖蛋白，为鱼类体表粘液中的重要天然免疫因子，且已逐渐成为研究热点。本文结合国内、外研究成果，对鱼类体表粘液凝集素的研究简史、分类、生物学性质和功能进行阐述。

1 鱼类粘液凝集素研究简史

不同于免疫球蛋白，凝集素为不具酶催化活性

收稿日期：2013-03-25；接受日期：2013-06-20
基金项目：国家 863 计划（2012AA100822）；现代农业产业技术体系建设专项（CARS-50- G01）；“泰山学者”建设工程专项
*通信作者（Corresponding author），E-mail: maaj@ysfri.ac.cn
第一作者简介：黄智慧（1982—），女，汉族，山东菏泽人，博士研究生，E-mail: zhihuih0710@yahoo.com.cn

的蛋白质或糖蛋白，能专一、多价与糖非共价可逆结合，并具有凝集细胞和沉淀聚糖或糖复合物的作用（Sun, 1994; Zhang, 1999），广泛存在于生物细胞膜、细胞质和细胞外基质，在脊椎动物及无脊椎动物的先天性免疫和宿主防御过程中起重要作用，参与异己识别、炎症反应、吞噬作用、细胞与细胞之间和细胞与外界之间的联络、受精、发育及再生等过程（Goldstein et al, 1980; Kilpatrick, 2002）。

凝集素最早由 Stillmark 在 1888 年从蓖麻籽和红豆碱中发现，此后，1919 年 Sumner 从豌豆中分离出结晶蛋白，命名为 ConA，并用此方法第一次获得了纯凝集素（Xiong et al, 2006）。20 世纪 70 年代，凝集素独特的性质引起越来越多学者的兴趣，并在很多生物体中被发现。Watkins & Morgan（1952）最早从鳗鱼中提取得到糖特异性凝集素，后来研究确定为 L-fucose 凝集素。20 世纪 80 年代后，在重组技术的支持下，鱼类凝集素研究有了突飞猛进的发展，人们从鱼体中分离筛选出多种新的具有生物活性的凝集素。经研究发现，鱼类凝集素在体内，如血清、体液、肌肉、血细胞及受精卵等（Jensen et al, 1997; Russel & Lumsden, 2005; Tateno et al, 2002; Yano, 1997），分布广泛的同时，也分布于体外，如鱼类体表粘液 （Suzuki et al, 2003）。

鱼类皮肤是保护鱼体与水环境接触的一道物理和化学屏障。皮肤粘液除包围入侵微生物外，还含有抗菌物质。其中，凝集素可有效识别和结合异己物质，产生凝集反应，从而防止外来微生物等入侵鱼体。Kamiya & Shimizu （1980）第一次从斑点犁齿鲆（*Lophopsetta maculata*）体表粘液中分离出了凝集素，随后，Ingram（1980）提出了鱼类体表含有凝集素，并将其描述为既非抗体类亦非酶类的碳水化合物结合蛋白。此后 30 年，有关鱼类体表粘液凝集素的研究有了更长足的进步，研究者们分别从阿拉伯海鲇（*Arius thalassinus*）、海鳗（*Conger myriaster*）、欧洲小龙（*Repomucenus richardsoniii*）、泥鳅（*Misgurnus anguillicaudatus*）、岬羽鼬（*Genypterus capensis*）等多种鱼体表粘液中分离并纯化出了凝集素（Goto-Nance et al, 1995; Kamiya et al, 1988; Shiomi et al, 1989, 1990; Toda et al, 1996），不断证实凝集素存在于鱼类体表，并与体液免疫因子，如免疫球蛋白、补体、溶菌酶和血溶素等，具有同等重要的抵抗病原菌侵入的功能，在鱼体天然免疫系统中至关重要。但当时对体表粘液凝集素蛋白质结构、分子结构及其生物学功能却鲜有报道。Suzuki（1985）、Suzuki & Kaneko （1986）对日本鳗鲡（*Anguilla japonica*）凝集素红血球凝集反应的研究，提出的该凝集素存在于上皮组织杯形细胞中的推论，为体表粘液凝集素定位及其生物学功能研究的首次报道。其后，Muramoto & Kamiya（1992）对康吉鳗（*Conger myriaster*）粘液凝集素的氨基酸进行测序，并于 1999 年根据其蛋白质一级结构提出了康吉鳗体表粘液凝集素包括 congerins Ⅰ和 congerins Ⅱ两种结构类型。此后将近 8 年的时间里，东京大学又从日本鳗鲡、红鳍东方鲀（*Takifugu. Rubripes*）及颈带鲾（*Leiognathus nuchalis*）的体表粘液中分离出了不同的凝集素（Okamoto et al, 2005; Tasumi et al, 2004; Tsutsui et al, 2006），并分别进行了结构研究，最终根据其糖类识别位点（carbohydrate recognition domains, CRDs）的差异以及 Ca^{2+}依赖性将鱼类体表粘液凝聚素确定为 4 种类型，此后在其他鱼种中发现的粘液凝集素也大都归属于以上 4 类（Chen, 2010; Rajan et al, 2011）。

2 体表粘液凝集素结构类型及其功能研究

迄今为止，共鉴定有 4 种鱼类体表粘液凝集素，即：半乳凝集素、C 型凝集素、Lily 型凝集素及 L-鼠李糖结合凝集素（Suzuki et al, 2003），表现广泛的分子多样性。第 1 种类型属于半乳凝素，其中包括从康吉鳗中分离出的 congerins Ⅰ，congerins Ⅱ，以及从日本鳗鲡中分离出的 AJL-1，由于此类凝集素可特异性结合半乳糖或乳糖，故在皮肤粘液中占大多数 （Suzuki, 1985; Suzuki & Kaneko, 1986）。第 2 种类型是典型的 C 型凝集素，最早发现于日本鳗鲡，命名为 AJL-2（Tasumi et al, 2002）。第 3 种类型是由红鳍东方鲀中提取的特异性甘露糖凝集素，结构与单子叶植物凝集素相似，被命名为 Lily-type lectin（Suzuki et al, 2003）。第 4 种提取自颈带鲾（*Leiognathus nuchalis*），为特异性乳糖结合凝集素（PFL-1,PFL-2）（Okamoto et al, 2005），由于其与从某些鱼卵中所提取的 L-鼠李糖结合凝集素具有高度同源性，故被归属于 L-鼠李糖结合凝集素家族 。另外，近期还发现了一种存在于鱼类体表粘液中的特异内源性凝集素（Tsutsui et al, 2011），目前尚未确定该凝集素的分类，本文暂将其单列一类。

表 1 体表粘液凝集素分类及特征汇总

Table 1 Characteristics of skin mucus lectin in fish

	半乳凝集素 Galectin	C 型凝集素 C-type lectin	Lily 型凝集素 Lily-type lectin	L-鼠李糖结合凝集素 Rhamnose-lectin	内源性凝集素 Intelectin
鱼 种 Species	康吉鳗 Conger 日本鳗 *Anguilla japonica*	日本鳗 *Anguilla japonica* 康吉鳗 Conger	红鳍东方鲀 *Takifugu Rubripes*	颈带鲾 *Leiognathus nuchalis*	鲶 鱼 *Silurus asotus*
凝集素名称 Lectin name	Congerins Ⅰ Ⅱ AJL-1	AJL-2 ConCL-s	Pufflectin	PFL-1 PFL-2	Intelectin
特异性结合糖类 Specific sugar	β-半乳糖 β-galactosid	乳糖 Lactose	甘露糖 Mannose	β-半乳糖 β-galactosid	甘露糖 Mannose
凝集细菌/寄生虫 Agglutination of bacteria or parasite	V. *anguillarum* *Streptococcus* sp.	*E. coli*	*Microcyclus marina* *Met-schnikowia reukaufii,*	—	—
氨基酸残基 Amino acid residues	AJL-1 142aa	AJL-2 166aa ConCL-s 174aa	116aa	PFL-1 231aa	308aa

2.1 半乳凝集素——galectins

Galectins 又称半乳凝集素，是广泛存在的主要凝集素类型，具以下特性： Ca^{2+}-不依赖性、特异的 β-半乳糖苷酶活性、N-末端封闭、缺少单肽与糖基以及主要定位与细胞质 （Kilpatrick, 2000）。Galectin 存在于动物体内及某些低等脊椎动物的体表粘液中，如非洲爪蟾（*Xenopus laevis*）（Marschal et al, 1992）以及康吉鳗（congerins Ⅰ和 congerins Ⅱ）等（Suzuki, 1985; Suzuki & Kaneko, 1986）。Tasumi et al（2002）对提取自日本鳗鲡的凝集素——AJL-1 的结构研究显示，其表现 β-半乳糖苷酶活性及 Ca^{2+}-不依赖性，N-末端封闭，由 142 个氨基酸残基组成，无半胱氨酸，未非共价键结合的二聚体结构，属于 galectin。而对其基因全长的研究则显示，AJL-1 426 bp 的开放阅读框编码 142 个氨基酸，同源性比较分析表明其与 congerins Ⅱ表现较高相似度（45%），且 AJL-1 具三个不同的糖结合残基，与 congerins Ⅰ结构相似（Shirai et al, 1999）。这些证据都表明 AJL-1 与康吉鳗粘液凝集素同源性较高。基因表达检测显示该凝集素仅存在于体表粘液，且表达含量很高（Kilpatrick, 2000）。AJL-1 具有较强的抵抗病原微生物能力，对致病菌、链球菌属均表现凝集活性，是鱼类体表粘液中重要的防御因子。

2.2 独特的 C 型凝集素

在动物凝集素中，C 型凝集素分布广泛，功能复杂，涉及体内许多重要的生理、病理过程。C 型凝集素成员均含有一个或多个特征性糖类识别功能域（CRD），且该功能域能够通过两对或三对二硫键形成明显而稳定的结构，具有 Ca^{2+}-依赖性，其中有 14 个恒定残基（包括 4 个 C 残基）和 18 个保守残基。大多数 C 型凝集素都与 D 型甘露糖（D-mannose）、D 型葡糖糖（D-glucose）这一类的 Man 型配体（Gal-type ligands）或 D 型半乳糖（D-galactose）及其衍生物结合（Kolatkar & Weis, 1996）。目前研究最多甘露糖结合（mannose-binding protein, MBP）C 型凝集素是激活免疫系统补体途径的最主要因子（Dong et al, 2004; Wei et al, 2010; Zhang et al, 2010）。在鱼类中，虹鳟（*Oncorhynchus mykiss*）、鲤鱼（*Cyprinus carpio*）、大西洋鲑（*Salmo salar*）、日本牙鲆（*Paralichthys olivaceus*）以及大菱鲆（*Scophthalmus maximus*）中的 C 型凝集素均已被克隆并进行了部分功能验证（Kondo et al, 2007; Nakao et al, 2006; Nikolakopoulou & Zarkadis, 2006; Richards et al, 2003; Zhang et al, 2010）。

上述 C 型凝集素均分布于体内，直到 2002 年，Tasumi 从日本鳗鲡体表粘液中分离出凝集素 AJL-2，其结构与 C-type lectin 相似，均具有一段保守性氨基酸序列，以及 4 个需要二硫键联接的保守半胱氨酸残基。AJL-2 具有 Ca^{2+}-不依赖性，其基因序列中包括 498 bp 的开放阅读框，编码 166 个氨基酸，同源性比对分析发现其与肋突螈（*Pleurodeles*），响尾蛇（*Crotalus atrox*）及小鼠等多个物种的 C 型凝集素同源，同源性≥30%。Northern blot 分析发现，AJL-2 仅存在于体表，且在鱼体上皮组织中的杯型细胞分泌液泡中积累。凝集反应实验表明，AJL-2 的凝集模式与 MBP 结合方式相似，对病原菌 *E.coli* K 12 具有凝集作用，进而抑制细菌穿透细胞膜进入机体，或促使细菌陷入到体表粘液中最终被新分泌出来的粘液冲洗掉而起到保护鱼体的作用（Tasumi et al, 2002）。

Tsutsui et al （2007）由康吉鳗体表粘液中发现了另一种对酵母菌具凝集活性的甘露糖特异性结合凝集素，并称之为 conCL-s，与之前在康吉鳗中发现的 congerins Ⅰ和 congerins Ⅱ不属于同一类型。该凝集素为四聚体结构，由两个以二硫键结合且单体分子量为 $16×10^3$ 的二聚体组成，其结构属于 C-type lectin 家族。conCL-s 对酵母菌的结合表现明显 Ca^{2+}-不依赖性。基因表达实验发现其广泛存在于机体内部和外部粘膜组织中，如皮肤、鳃、舌和食道，在这些组织中，conCL-s 对细菌具有凝集性，且在康吉鳗巨噬细胞中，lectin 结合微球体可显著提高细胞的吞噬作用。这些发现均表明 conCL-s 具有调理素的作用，在体表天然免疫系统中起重要作用。

2.3 Lily 型凝集素——pufflectin

Suzuki et al（2003）将从红鳍东方鲀体表粘液中提取出的 pufflectin 认定为第 3 种类型凝集素，并命名为“Lily-type lectin”。该凝集素较为特殊，cDNA 全长 527 bp，包括编码 116 个氨基酸的 348 bp 开放阅读框，其上游区无 ATG 翻译起始位点，即不含单肽的特征常见于半乳凝集素（Kilpatrick, 2000）。Pufflectin 氨基酸序列与目前发现的任何一类动物凝集素均无同源性，却与单子叶植物的甘露糖凝集素高度同源，如雪花莲（*Galanthus nicalis*）、水仙花（*Narcissus hybrid cultivar*）、韭菜（*Allium prorrum*）和大蒜（*A.sativum*）等。这些植物的凝集素都含有三个甘露糖结合位点，而 pufflectin 被证实含有其中两个（Tsutsui et al, 2007）。这类凝集素在体内分布广泛，在鳃、口腔壁、食道以及体表都有表达。据报道，凝集素与细菌具有特异性凝集现象，而 pufflectin 与细菌并不发生凝集反应，但却对寄生虫具有凝集活性，这一发现指出其对鱼体在由寄生虫引起的机体防御系统中起重要作用。Pufflectin 是第一个被发现与寄生虫有凝集现象的鱼类体表粘液凝集素，证实了凝集素对细菌及寄生虫均具天然免疫功能。

2.4 L-鼠李糖结合凝集素——PFL-1，PFL-2

第四种类型粘液凝集素为提取自颈带鲾（ponyfish *Leiognathus nuchalis*）的特异性乳糖结合凝集素（PFL-1,PFL-2），cDNA 全长 1 086 bp,包括 693 bp 开放阅读框，编码 231 个氨基酸。PFL-1 与从某些鱼卵中提取的 L-鼠李糖结合凝集素高度同源，均拥有一段保守的串联重复序列，故归属于 L-鼠李糖结合凝集素家族。但 PFL-1 仅表达于体表粘液，而不存在于性腺、鳃、肝脏、脾脏以及肠道。PFL-2 与 PFL-1 的 N-末端氨基酸序列高度相似，被确认与 PFL-1 同型（Okamoto et al, 2005）。该种凝集素亦具有凝集细菌，阻止其进入而保护鱼体的重要免疫功能，但其具体作用机理尚无报道。

2.5 新发现的粘液凝集素

Tsutsui et al（2011）在鲶鱼（*Silurus asotus*）体表粘液中发现了具甘露糖结合的 Ca^{2+}-依赖活性的甘露糖结合凝集素。凝胶过滤结果显示，其具有单聚体和二聚体形式，为由 308 个氨基酸组成的分泌蛋白，与哺乳动物和鱼类内源凝集素同源。该凝集素基因在鱼类的鳃部、肾和皮肤都有所表达。抗血清反应监测显示，内源性凝集素蛋白存在于皮肤和鳃的杯型细胞、肾脏及血浆。此凝集素对病原微生物具有凝集活性，揭示其在鱼类体表抵抗外来细菌侵入的自我保护系统中至关重要。而且，该凝集素的发现证实内源性蛋白同样存在于鱼类体表粘液，为对凝集素家族功能的补充。目前该凝集素分类尚未确定，暂将其归为内源性凝集素类。随着分子生物学、蛋白组学技术及测序技术的迅猛发展，通过转录组文库、蛋白组图谱等高端技术，研究者在其他鱼种中发现了粘液凝集素，如 Rajan et al （2011）在对大西洋鳕鱼（*Gadus morhua*）粘液进行比较蛋白组学研究时，就发现其存在 Galectin-1 及甘露糖凝集素（MBL），Bo et al（2012）构建感染鳗弧菌青鳉鱼（*Oryzia melastigma*）的消减文库，Blast 比对获得了其粘液凝集素。但目前尚未深入开展这些凝集素分子结构特点及凝集反应现象等有关功能特性的研究。

3 鱼类体表粘液凝集素功能性研究展望

凝集素功能性研究开展较早的是植物凝集素，对其生理功能以及分子机制等都有较深入探究，尤其是为防治病虫害开拓了新思路。植物凝集素被认为是植物防御系统的重要组成部分，目前，更多应用于转基因抗虫品种的培育及抗病品种的筛选。海洋生物凝集素相对发展较晚，自 20 世纪 70 年代后期，其在贝类免疫识别中的作用才为人们所关注，随着研究的深入，现已发现海洋生物凝集素的生物活性绝不逊色于陆生植物凝集素，且水产动物凝集素的研究也已有不少报道（James & Rowland, 1974；Muramoto et al, 1994）。其中，鱼类凝集素通过有效识别和结合异己物质，提高吞噬细胞

对异己物质的吞噬、灭杀作用，以及作为免疫活性物质保护机体的防御功能已得到了越来越多的关注。

鱼类体表粘液及其中所包含的凝集素，以及凝集素的分子结构多样性在保护鱼体免遭外界环境中的病菌、寄生物和病毒的侵袭中至关重要（Huang et al, 2009）。粘液凝集素对寄生虫也表现强烈的凝集活性，同时，还具有调理素的功能。因此，掌握其生物功能的多样性及特殊性，对于了解鱼类粘液免疫系统以及抵抗外界环境胁迫效应都有着广泛的应用前景。

日本东京大学 SuzukiYuzuru 教授经过近 10 年的研究，目前，已从多个物种中分离纯化出了凝集素，并对其蛋白及分子结构作了详细分析和功能验证，根据其对糖特异性结合位点及对 Ca^{2+}-依赖性等结构性特性进行了初步分类。但这些成果对于大规模凝集素功能性应用开发而言，只是初级阶段，关于体表粘液凝集素的功能性分子机理以及应用性研究仍需进一步研究。笔者认为，凝集素具有多价结合能力，能与荧光素、酶、生物素、铁蛋白及胶体金等结合，而不影响其生物活性，可用于光镜或电镜水平的免疫细胞化学研究工作，探究机体在处于环境胁迫条件下的体表上皮细胞分化、增生和恶变的生物学演变过程，了解病理变化，从而对机体状态作出诊断评价。而且粘液凝集素对于不同类型的细菌具有特异凝集活性，可以作为粗略鉴定病原微生物的指示因子。

总之，粘液凝集素作为生物体内特殊的糖蛋白，存在于鱼体与外界直接接触的第一道门户——体表粘液中，在鱼类整个生命过程中至关重要。它在认识和解决鱼类集约化、半集约化养殖疾病防治中的重要意义也得到了越来越多的关注，而且随着生物工程研究手段和研究领域的不断扩大，对其开发、利用和生化工程技术的拓展将具有广阔应用前景。

参考文献：

Alexander JB, Ingram GA. 1992. Noncellular nonspecific defence mechanisms of fish. *Annual Review of Fish Diseases*, **2**: 249-279.

Bo J, Giesy JP, Ye R, Wang KJ, Lee JS, Au DW. 2012. Identification of differentially expressed genes and quantitative expression of complement genes in the liver of marine medaka *Oryzias melastigma* challenged with *Vibrio parahaemolyticus*. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part D,* **7**(2): 191-200.

Buchman K, Bresciani J. 1998. Microenvironment of *Gyrodactylus derjavini* on rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*: association between mucous cell density in skin and site selection. *Parasitology Research,* **84**(1): 17-24.

Chen YY. 2010. Identification and Molecular Characterization of Three Kinds of Lectin in Large Yellow Croaker. Guangzhou: Sun Yar-sen University, 12-14. [陈园园. 2010. 大黄鱼三种凝集素的克隆表达、进化分析和功能研究. 广州: 中山大学, 12-14.]

Dong CH, Yang ST, Yang ZA, Zhang L, Gui JF. 2004. A C-type lectin associated and translocated with cortical granules during oocyte maturation and egg fertilization in fish. *Developmental Biology,* **265**(2): 341-354.

Fletcher TC, Grant PT. 1969. Immunoglobulins in the serum and mucus of the plaice (*Pleuronetes platessa*). *The Journal of Biochemistry,* **115**(5): 1-65.

Goldstein IJ, Huges RC, Monsigny M, Osawa T, Sharon N. 1980. What should be called a lectin. *Nature,* **285**(5760): 66.

Goto-Nance R, Watanabe Y, Kamiya H, Ida H. 1995. Characterization of lectins from the skin mucus of the loach *Misgurnus anguillicaudatus*. *Fisheries Science,* **61**(1): 137-140.

Huang ZH, Ma AJ, Wang M. 2009. Research progression in secretion of fish skin mucous and its function. *Marine Sciences,* **33**(1): 90-94. [黄智慧, 马爱军, 汪岷. 2009. 鱼类体表黏液分泌功能与作用研究进展. 海洋科学, **33**(1): 90-94.]

Ingram GA. 1980. Substances involved in the natural resistance of fish to infection: a review. *Journal of Fish Biology,* **16**(1): 23-60.

James LH, Rowland DT Jr. 1974. Heterogeneity of lobster agglutinins. Purification and physicochemical characterization. *Biochemistry,* **13**(4): 821-827.

Jensen LE, Thiel S, Petersen TE, Jensenius JC. 1997. A rainbow trout lectin with multimeric structure. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology,* **116**(4): 385-390.

Kamiya H, Shimizu Y. 1980. Marine biopolymer with cell specificity: Ⅱ. Purification and characterization of agglutinins from mucus of windowpane flounder *Lophopsetta maculata*. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Protein Structure,* **622**(2): 171-178.

Kamiya H, Muramoto K, Goto R. 1988. Purification and properties of agglutinins from conger eel, Conger myriaster (*Brevoort*), skin mucus. *Developmental & Comparative Immunology,* **12**(2): 309-318.

Kilpatrick DC. 2000. Handbook of Animal Lectins. Chichester: Wiley, 245-276.

Kilpatrick DC. 2002. Animal lectins: a historical introduction and overview. *Biochimica et Biophysica Acta,* **1572**(2-3): 187-197.

Kolatkar AR, Weis WI. 1996. Structural basis of galactose recognition by C-type animal lectins. *Journal of Biological Chemistry,* **271**(12): 6679-6685.

Kondo H, Yeu Tzeh AG, Hirono I, Aoki T. 2007. Identification of a novel C-type lectin gene in Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*. *Fish & Shellfish Immunology,* **23**(5): 1089-1094.

Muramoto K, Kamiya H. 1992. The amino-acid sequence of a lectin from conger eel, *Conger myriaster*, skin mucus. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects,* **1116**(2): 129-136.

Muramoto K, Yako H, Kamiya H. 1994. Multiple lectins as major proteins

in the coelomic fluid of the acorn barnacle *Megabalanus rosa*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry,* **107**(3): 395-399.

Muramoto K, Kagawa D, Sato T, Ogawa T, Nishida Y, Kamiya H. 1999. Functional and structural characterization of multiple galectins from the skin mucus of conger eel, *Conger myriaster*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology,* **123**(1): 33-45.

Nakao M, Kajiya T, Sato Y, Somamoto T, Kato-Unoki Y, Matsushita M, Nakata M, Fujita T, Yano T. 2006. Lectin pathway of bony fish complement: identification of two homologs of the mannose-binding lectin associated with MASP2 in the common carp (*Cyprinus carpio*). *The Journal of Immunology,* **177**(8): 5471-5479.

Nikolakopoulou K, Zarkadis IK. 2006. Molecular cloning and characterisation of two homologues of mannose-binding lectin in rainbow trout. *Fish & Shellfish Immunology,* **21**(3): 305-314.

Richards RC, Hudson DM, Thibault P, Ewart KV. 2003. Cloning and characterization of the Atlantic salmon serum lectin, a long-form C-type lectin expressed in kidney. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects,* **1621**(1): 110-115.

Okamoto M, Tsutsui S, Tasumi S, Suetake H, Kikuchi K, Suzuki Y. 2005. Tandem repeat L-rhamnose-binding lectin from the skin mucus of ponyfish, *Leiognathus nuchalis*. *Biochemical and Biophysical Research Communications,* **333**(2): 463-469.

Rajan B, Fernandes JMO, Caipang CMA, Kiron V, Rombout JHWM, Brinchmann MF. 2011. Proteome reference map of the skin mucus of Atlantic cod (*Gadus morhua*) revealing immune competent molecules. *Fish & Shellfish Immunology,* **31**(2): 224-231.

Russel S, Lumsden JS. 2005. Function and heterogeneity of fish lectins. *Veterinary Immunology and Immunopathology,* 108(1-2): 111-120.

Shiomi K, Uematsu H, Yamanaka H, Kikuchi T. 1989. Purification and characterization of a galactose-binding lectin from the skin mucus of the conger eel *Conger myriaster*. *Comparative Biochemistry and Physiology B,* **92**(2): 255-261.

Shiomi K, Uematsu H, Ito H, Yamanaka H, Kikuchi T. 1990. Purification and properties of a lectin in the skin mucus of the dragonet *Repomucenus richardsonii*. *Nippon Suisan Gakkaishi,* **56**(1): 119-123.

Shirai T, Mitsuyama C, Niwa Y, Matsui Y, Hotta H, Yamane T, Kamiya H, Ishii C, Ogawa T, Muramoto K. 1999. High-resolution structure of the conger eel galectin, congerin I, in lactose-liganded and ligand-free forms: emergence of a new structure class by accelerated evolution. *Structure,* **7**(10): 1223-1233.

Sun C. 1994. Talk about the basic principles of the lection role and the structure of the glycoprotein oligosaccharide. *Biology of Chemical,* **14**(2): 36-37. [孙册. 1994. 谈谈凝集素作用的基本原理和糖蛋白的寡糖结构. 生物的化学, **14**(2): 36-37.]

Suzuki Y. 1985. Hemolysin and hemagglutinin in skin mucus of the Japanese ell *Anguilla japonica*. *Nippon Suisan Gakkaishi,* **51**: 2083.

Suzuki Y, Kaneko T. 1986. Demonstration of the mucous hemagglutinin in the club cells of eel skin. *Developmental & Comparative Immunology,* **10**(4): 509-518.

Suzuki Y, Tasumi S, Tsutsui S, Okamoto M, Suetake H. 2003. Molecular diversity of skin mucus lectins in fish. *Comparative Biochemistry and Physiology B,* **136**(4): 723-730.

Tateno H, Ogawa T, Muramoto K, Kamiya H, Saneyoshi M. 2002. Distribution and molecular evolution of rhamnose-binding lectins in Salmonidae: isolation and characterization of two lectins from white-spotted Charr (*Salvelinus leucomaenis*) eggs. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry,* **66**(6): 1356-1365.

Tasumi S, Ohira T, Kawazoe I, Suekake H, Suzuki Y, Aida K. 2002. Primary structure and characteristics of a lectin from skin mucus of the Japanese eel *Anguilla japonica*. *Journal of Biological Chemistry,* **277**(30): 27305-27311.

Toda M, Goto-Nance R, Muramoto K, Kamiya H. 1996. Characterization of the lectin from the skin mucus of the kingklip *Genypterus capensis*. *Fisheries Science,* **62**(1): 138-141.

Tsutsui S, Iwamoto K, Nakamura O, Watanabe T. 2007. Yeast-binding C-type lectin with opsonic activity from conger eel (*Conger myriaster*) skin mucus. *Molecular Immunology,* **44**(5): 691-702.

Tsutsui S, Tasumi S, Suetake H, Kikuchi K, Suzuki Y. 2006. Carbohydrate-binding site of a novel mannose-specific lectin from fugu (*Takifugu rubripes*) skin mucus. *Comparative Biochemistry and Physiology B,* **143**(4): 514-519.

Tsutsui S, Komatsu Y, Sugiura T, Araki K, Nakamura O. 2011. A unique epidermal mucus lectin identified from catfish (*Silurus asotus*): first evidence of intelectin in fish skin slime. *The Journal of Biochemistry,* **150**(5): 501-504.

Tasumi S, Ohira T, Kawazoe I, Suetake H, Suzuki Y, Aida K. 2002. Primary structure and characteristics of a lectin from skin mucus of the Japanese Eel *Anguilla japonica*. *Journal of Biological Chemistry,* **277**(30): 27305-27311.

Tasumi S, Yang WJ, Usami T, Tsutsui S, Ohira T, Kawazoe I, Wilder MN, Aida K, Suzuki Y. 2004. Characteristics and primary structure of a galectin in the skin mucus of the Japanese eel, *Anguilla japonica*. *Developmental and Comparative Immunology,* **28**(4): 325-335.

Watkins WM, Morgan WTJ. 1952. Neutralization of the anti-H agglutinin in eel serum by simple sugars. *Nature,* **169**(4307): 825-826.

Wei JG, Xu D, Zhou JG, Cui HC, Yan Y, Ouyang ZL, Gong J, Huang YH, Huang XH, Qin QW. 2010. Molecular cloning, characterization and expression analysis of a C-type lectin (Ec-CTL) in orange-spotted grouper, *Epinephelus coioides*. *Fish & Shellfish Immunology,* **28**(1): 178-186.

Xiong CN, Li W, Bai XF, Du YG. 2006. Research history of lectin and its bio-functions. *Fine and Specialty Chemicals,* **14**(8): 12-16. [熊川男, 李伟, 白雪芳, 杜昱光. 2006. 凝集素的研究历史及其生物功能. 精细与专用化学品, **14**(8): 12-16.]

Yano T. 1997. The non-specific immune system: humoral defence. *In*: Iwama G, Nakanishi T, Hoar WS, Randall DJ. The Fish Immune System: Organism, Pathogen, and Environment. New York: Academic Press, 106-140.

Zhang M, Hu YH, Sun L. 2010. Identification and molecular analysis of a novel C-type lectin from *Scophthalmus maximus*. *Fish & Shellfish Immunology,* **29**(1): 82-88.

Zhang WJ. 1999. Biochemical Research Technology of Glycoconjugates. 2nd ed. Huangzhou: Zhejiang University Press. [张惟杰. 1999. 糖复合物生化研究技术. 2 版. 杭州: 浙江大学出版社.]

动　物　学　研　究　2013，Dec. 34(6): 680−686　　CN 53-1040/Q　ISSN 0254-5853
Zoological Research　　DOI:10.11813/j.issn.0254-5853.2013.6.0680

澜沧江中下游鱼类现状及保护

郑兰平，陈小勇*，杨君兴*

中国科学院昆明动物研究所，云南 昆明 650223

摘要：据记载，分布于澜沧江中下游的鱼类达 165 种，而近几年的调查结果显示，能采集到的仅 71 种，鱼类资源呈下降趋势。目前，澜沧江中下游的鱼类种类和数量减少（尤以大、中型及珍稀特有鱼类为甚），而外来种种类和数量增加。据此，该文提出了严防外来种逃逸、限制捕捞强度及开展增殖放流等建议。

关键词：鱼类；现状；保护；澜沧江
中图分类号：Q915.862　　**文献标志码**：A　　**文章编号**：0254-5853-(2013)06-0680-07

Status and conservation of fishes in the middle and lower Langcangjiang River

Lan-Ping ZHENG, Xiao-Yong CHEN *, Jun-Xing YANG *

Kunming Institute of Zoology, the Chinese Academy of Sciences, Kunming Yunnan 650223, *China*

Abstract: According to the extant records, there are a total of 165 species of fish along the middle and lower Langcangjiang River. However, in recent years, only 71 of these species have been be collected, indicating that fish resources of the middle and lower Langcangjiang River are declining, especially the medium-large and rare-endemic species. Accordingly, this study suggests several new initiatives, including controlling introduced species, restricting fishing intensity and implementing fish reproduction and release.

Keywords: Fish; Status; Conservation; Langcangjiang River

澜沧江发源于青海省境内的唐古拉山东北部，在我国境内流经青、藏、滇三省，于云南南部西双版纳傣族自治州流出国境，出国境后称湄公河，经缅甸、老挝、泰国、柬埔寨及越南，注入南海，是东南亚著名的国际河流。澜沧江—湄公河全长～4500 km，中国境内～2 000 km，通常以德钦—功果桥为中游河段，功果桥—勐腊县南腊河口为下游河段（He & Tang，2000）。

澜沧江鱼类系统记载首推《云南鱼类志》（Chu & Chen，1989，1990），其后，一些澜沧江鱼类新种、新记录描记，以及鱼类资源调查等相继被报道（Chen，2003，Chen et al，2005；Endruweit，2013a，b; He et al，1987；He et al，1999；Kang & He，2007；Liu et al，2011; Zhou & Han，1999）。迄今为止，被记录的澜沧江水系鱼类已近 200 种，在云南六大水系之中，仅次于西江（包括南盘江、北盘江及西洋江）。但近年来，随着梯级电站的修建及人为活动加剧等影响，澜沧江鱼类资源也随之发生着变化。本文基于近年鱼类资源调查的最新结果，对澜沧江中、下游鱼类资源现状作简要总结。

1　材料与方法

调查时间为 2008 年至今，方法涉及购买、早期鱼类资源调查、小型电捕及网捕等。标本捕获后依次编号并依据 Chu & Chen（1989，1990）、Chu et al（1999）、Zhu（1989，1995）、Chen et al（1998）及 Yue et al（2000）等分类鉴定。澜沧江中、下游鱼类历史记录参阅以上各志书以及最新发表的新种、新记录，如：Chen et al（2010a，b，c），Chen （2013）。

本文目科级分类系统依照 Nelson（2006）。鲤形目各科划分综合 Mayden et al（2008）、Saitoh et al（2006）及 Tang et al（2006）的建议，分为鳅总科

收稿日期：2013-03-22；接受日期：2013-05-10
基金项目：国家科技部科技基础性工作专项（2008FY110300）；云南澜沧江糯扎渡水电站施工期生态监测项目
*通信作者（Corresponding authors），E-mail: chenxy@mail.kiz.ac.cn; yangjx@mail.kiz.ac.cn

(Cobitoidea）和鲤总科（Cyprinoidea），鳅总科分为双孔鱼科(Gyrinocheilidae）、亚口鱼科(Catostomidae)、沙鳅科（Botiidae、Vaillantellidae）(中国无分布)、爬鳅科(Balitoridae)、鳅科(Cobitidae）及条鳅科（Nemacheilida）等 7 科，鲤总科仅鲤科(Cyprinidae）一科。依照 Chu & Chen（1989），鲤科沿用 12 亚科分类系统，仅参考近期研究结果对部分物种归属略作调整。

2　结　果

2.1　澜沧江中、下游鱼类历史概况

根据《云南鱼类志》(上、下册)、《中国动物志硬骨鱼纲·鲤形目》(中、下）与《中国动物志硬骨鱼纲　鲇形目》等文献资料、最近发表的新记录和新种报道以及我们的调查结果统计，迄今为止，澜沧江中、下游记录鱼类共 165 种，隶属 11 目 28 科 100 属。其中，鲤形目鱼类最多，共 119 种，隶属 6 科 70 属；鲇形目次之，共 26 种，隶属 8 科 15 属；再次为鲈形目，共 11 种，隶属 5 科 6 属；之后为合鳃鱼目，共两种，隶属 2 科 2 属；最后分别为鳐形目、鲑形目、鳗鲡目、脂鲤目、颌针鱼目、鳉形目和鲀形目等，均为一种，各自隶属 1 科 1 属（附录 I)。

2.2　澜沧江中、下游鱼类种类组成现状

2008 年至今，于澜沧江中、下游共采集标本 2917 尾，隶属 6 目 16 科 52 属 71 种。其中，鲤形目鱼类最多，共 53 种，隶属 5 科 39 属；鲇形目次之，共 10 种，隶属 4 科 6 属；其次为鲈形目，共 4 种，隶属 3 科 3 属；之后为合鳃鱼目，共两种，隶属 2 科 2 属；最后为鲑形目和鲀形目，均为一种，各自隶属 1 科 1 属（附录 I)。

2.3　珍稀鱼类

据历史记录，澜沧江中、下游鱼类无国家 I、II 级保护动物。云南省 II 级保护动物包括双孔鱼（*Gyrinocheilus aymonieri*）、大鳍鱼（*Macrochirichthys macrochirius*）和长丝𩷶（*Pangasius sanitwongsei*）等。9 种被收录于《中国濒危动物红皮书·鱼类》的保护动物，除上述 3 种外，还包括裂峡鲃（*Hampala macrolepidota*）、红鳍方口鲃（*Cosmochilus cardinalis*)、鲃鲤（*Puntioplites proctozysron*）[又名镰鲃鲤(*Puntioplites falcifer*）]、湄南缺鳍鲇(*Kryptopterus moorei*）、短须粒鲇(*Akysis brachybarbatus*）及𫚉(*Bagarius bagarius*）等（Wang et al，2003），其中，仅裂峡鲃和𫚉尚能采集到少量个体外，其他种类已多年未被采集到。除此之外，南腊方口鲃(*Cosmochilus nanlaensis*)、短须圆唇鱼(*Cyclocheilichthys repasson*)、细纹似鳡(*Luciocyprinus striolatus*）、长背鲃(*Labiobarbus leptocheila*)、单吻鱼(*Henicorhynchus lineatus*)、舌唇鱼(*Lobocheilus melanotaenia*)、小盘齿鲃（*Discherodontus parvus*）、爪哇鲃鲤(*Puntioplites waandersi*)、马头鳅(*Acanthopsis choirorhyrchos*)、拟长鳅(*Acanthopsoides gracilis*)、湄公半鲇(*Hemisilurus mekongensis*)、短须𩷶(*Pangasius micronemus*)、贾巴𩷶(*Pangasius djambal*）及中华粒鲇(*Akysis sinensis*）等虽未被列入保护动物，但已多年未见踪迹，也应归为珍稀濒危鱼类。

3　讨　论

3.1　现状特点

从历史记录和近年来的标本采集记录可见，澜沧江中、下游鱼类现状具有以下特点：(1)鱼类种类下降，历史记录中，澜沧江中、下游鱼类共 165 种，而目前能采集到的仅 71 种；(2)大、中型鱼类，尤其是干流中的结鱼属、𫚉属及孟加拉鲮属等大型鱼类减少，而中、小型鱼类如长臀鮡鲇、长臀鲃、墨头鱼属及南鳅属等数量较多，为优势种，且支流中也以墨头鱼属及南鳅属等小型鱼类为主；(3)珍稀、特有鱼类种类、数量稀少，九种被列入《中国濒危动物红皮书　鱼类》中的种类，目前能采集到的仅 2 种，其它种类已多年未见；(4)外来种，如罗非鱼及鲤等种类和数量增加。

3.2　保护建议

针对澜沧江中下游目前的鱼类资源现状，我们认为应从以下几点给予关注：(1）控制外来种，近年来，澜沧江中、下游外来种种类及数量显著增加，极有可能为养殖品种逃逸到自然水体中所致，而非自然种群的增长，因此，应严防养殖品种逃逸；(2）限制捕捞强度，目前，澜沧江中、下游的干、支流中均存在捕捞强度过大以致鱼类资源锐减的现象，常见一天之内数批人于同一干、支流中获取鱼类资源；(3）保护支流，在干流受污染或人为干扰影响加剧后，支流、小河会成为鱼类的主要生活及繁殖场所，而调查发现，支流种类数量正急剧减少，因此，应加强支流环境、资源保护及管理力度；(4）开展增殖放流研究，增加珍稀、特有鱼类种群数量。

参考文献：

Chen YY. 1998. Fauna Sinica. Osteichthyes. Cypriniformes II. Beijing: Sciences Press. [陈宜瑜. 1998. 中国动物志 硬骨鱼纲 鲤形目 (中卷). 北京: 科学出版社.]

Chen ZM, Yang JX, Qi WL. 2005. Description of a new loach of Schistura from Lancang River basin, Yunnan, China. *Acta Hydrobiologica Sinica,* **29**(2): 146-149. [陈自明, 杨君兴, 祁文龙. 2005. 中国澜沧江南鳅属鱼类一新种. 水生生物学报, **29**(2): 146-149.]

Chen ZM, Wu XY, Xiao H. 2010c. A new species of the genus Garra from Lancangjiang River Basin, Yunnan, China (*Teleostei: Cyprinidae*). *Journal of Xinyang Normal University,* **23**(3): 381-383. [陈自明, 吴晓云, 肖蘅. 2010. 中国澜沧江流域墨头鱼属一新种描述 (鲤形目, 鲤科). 信阳师范学院学报(自然科学版), **23**(3): 381-383.]

Chen ZM, Huang DC, Xu SY, Qi WL. 2003. A new record of Cyprinid fishes in China——*Barbodes gonionotus*. *Zoological Research,* **24**(2): 148-150. [陈自明, 黄德昌, 徐世英, 祁文龙. 2003. 中国鲤科鱼类新纪录——爪哇四须鲃. 动物学研究, **24**(2): 148-150.]

Chen ZM, Zhang XY, Qi WL, Deng XM, Xiao H. 2010a. A new record of Anguillid Fish in Lancangjiang River, China: Anguilla bicolor. *Zoological Research,* **31**(4): 444-445.

Chen ZM, Zhang XY, Qi WL, Li JH, Xiao H. 2010b. A new record of Dasyatid Fish in China: Dasyatis laosensis. *Zoological Research,* **31**(6): 675-676.

Chu XL, Chen YR. 1989. The Fishes of Yunnan, China Part Ⅰ. Cyprinidae. Beijing: Sciences Press. [褚新洛, 陈银瑞. 1989. 云南鱼类志 上册. 北京: 科学出版社.]

Chu XL, Chen YR. 1990. The Fishes of Yunnan, China Part Ⅱ. Cyprinidae. Beijing: Sciences Press. [褚新洛, 陈银瑞. 1990. 云南鱼类志 下册. 北京: 科学出版社.]

Chu XL, Zheng BS, Dai DY. 1999. Fauna Sinica. Osteichthyes. Siluriformes. Beijing: Sciences Press. [褚新洛, 郑葆珊, 戴定远. 1999. 中国动物志硬骨鱼纲 鲇形目. 北京: 科学出版社.]

Endruweit M. 2013a. Four new records of fish species (Cypriniformes: Nemacheilidae, Balitoridae; Characiformes: Prochilodontidae) for China, with corrections of two misidentifications of fish species (Tetraodontiformes: Tetraodontidae; Beloniformes: Belonidae) in Yunnan, China. *Zoological Research,* **34**(3): (in press).

Endruweit M. 2013b. *Schistura sexnubes*, a new diminutive river loach from the upper Mekong basin, Yunnan Province, China (Teleostei: Cypriniformes: Nemacheilidae). *Zoological Research,* **34**(3): (in press).

He DM, Tang QC. 2000. Chinese International Rivers. Beijing: Science Press. [何大明, 汤奇成. 2000. 中国国际河流. 北京: 科学出版社.]

He SP, Wang W, Chen YR, Li ZY, Yang JX. 1999. The preliminary investigation of fish biodiversity in middle and upper reach of Lancangjiang River. *Yunnan Geographic Environment Research,* **11**(1): 26-29. [何舜平, 王伟, 陈银瑞, 李再云, 杨君兴. 1999. 澜沧江中上游鱼类生物多样性现状初报. 云南地理环境研究, **11**(1): 26-29.]

Kang B, He DM. 2007. Research Progress of Biodiversity of Fish Species in the Lancangjiang River. *Resources Science,* **29**(5): 195-200. [康斌, 何大明. 澜沧江鱼类生物多样性研究进展. 资源科学, **29**(5): 195-200.]

Liu MD, Chen DQ, Duan XB, Wang K, Liu SP. 2011. Ichthyofauna composition and distribution of fishes in Yunnan section of Lancang River. *Journal of Fishery Sciences of China,* **18**(1): 156-170. [刘明典, 陈大庆, 段辛斌, 王珂, 刘绍平. 2011. 澜沧江云南段鱼类区系组成与分布. 中国水产科学, **18**(1): 156-170.]

Liu ZH, He JC, Jiang WG. 1987. A survey of fishes in the middle reaches of the Lancang River, Yunnan Province. *Journal of Yunnan University,* **9**(2): 146-150. [刘振华, 何纪昌, 江望高. 1987. 云南澜沧江中游地区鱼类调查研究. 云南大学学报, **9**(2): 146-150.]

Mayden RL, Tang KL, Wood RM, et al. 2008. Inferring the Tree of Life of the order Cypriniformes, the earth's most diverse clade of freshwater fishes: Implications of varied taxon and character sampling. *Journal of Systematics and Evolution,* **46**(3): 424-438.

Nelson JS. 2006. Fishes of the World. 4th ed. Hoboken, New Jersey, USA: John Wiley & Sons.

Saitoh K, Sado T, Mayden R, Hanzawa N, Nakamura K, Nishida M, Miya M. 2006. Mitogenomic Evolution and Interrelationships of the Cypriniformes (Actinopterygii: Ostariophysi): The First Evidence Toward Resolution of Higher-Level Relationships of the World's Largest Freshwater Fish Clade Based on 59 Whole Mitogenome Sequences. *Journal of Molecular Evolution,* **63**(6): 826-841.

Tang Q, Liu H, Mayden R, Xiong B. 2006. Comparison of evolutionary rates in the mitochondrial DNA cytochrome b gene and control region and their implications for phylogeny of the Cobitoidea (Teleostei: Cypriniformes). *Molecular Phylogenetics and Evolution,* **39**(2): 347-357.

Wang S, Yue PQ, Chen YY. 2003. China Red Data Book of Endangered Animals Fishes. Beijing: Sciences Press. [汪松, 乐佩琦, 陈宜瑜. 2003. 中国濒危动物红皮书 鱼类. 北京: 科学出版社.]

Yue PQ. 2000. Fauna Sinica. Osteichthyes. Cypriniformes Ⅲ. Beijing: Sciences Press. [乐佩琦. 2000. 中国动物志 硬骨鱼纲 鲤形目 (下卷). 北京: 科学出版社.]

Zhou W, Han LX. 1999. Ichthyofauna and sustainable utilization of fish resources in Yunnan Lancangjiang River (the upper Mekong). *China Biodiversity Conservation for the 21st Century,* 282-288. [周伟, 韩联宪. 1999. 云南澜沧江水系鱼类资源的保护及持续利用. 面向 21 世纪的中国生物多样性保护, 282-288.]

Zhu SQ. 1989. The Loaches of the Subfamily Nemacheilinae in China (Cypriniformes: Cobitidae). Nanjing: Jiangsu Science and Technology Publishing House. [朱松泉. 1989. 中国条鳅志. 南京: 江苏科学技术出版社.]

Zhu SQ. 1995. Index of Freshwater Fishes in China. Nanjing: Jiangsu Science and Technology Publishing House. [朱松泉. 1995. 中国淡水鱼类检索. 南京: 江苏科学技术出版社.]

附录 I 澜沧江中、下游鱼类名录

Appendix I List of Fishes in the middle and lower sections of Lancangjiang River

编号 Serial number	中文名 Chinese name	拉丁名 Latin name	历史记录 Historical records	2008 年—至今采集记录(采集数量) Collection records (Collection number) since 2008
	鳐形目	RAJIFORMES		
	魟科	Dasyatidae		
1	老挝魟	*Dasyatis laosensis*	+	
	鲑形目	SALMOIFORMES		
	银鱼科	Salangidae		
2	太湖新银鱼*	*Neosalanx taihuensis*	+	+ (31)
	鳗鲡目	SALMONIFORMES		
	鳗鲡科	Anguillidae		
3	二色鳗	*Anguilla bicolor*	+	
	脂鲤目	CHARACIFORMES		
	鲮脂鲤科	Prochilodontidae		
4	条纹鲮脂鲤*	*Prochilodus lineatus*	+	
	鲤形目	CYPRINIFORMES		
	双孔鱼科	Gyrinocheilidae		
5	双孔鱼	*Gyrinocheilus aymonieri*	+	
	鲤科	Cyprinidae		
6	金线鲃	*Danio chrysotaeniata*	+	+ (6)
7	小鲃	*Danio apopyris*	+	
8	条纹裸鲃	*Gymnodanio strigatus*	+	
9	泰国低线鱲	*Barilius koratensis*	+	
10	丽色低线鱲	*Barilius pulchellus*	+	+ (22)
11	斑尾低线鱲	*Barilius caudiocellatus*	+	+ (54)
12	长嘴鱲	*Raiamas guttatus*	+	+ (7)
13	黄尾波鱼	*Rasbora dusonensis*	+	
14	黑背波鱼	*Rasbora atridorsalis*	+	
15	北方波鱼	*Rasbora septentrionalis*	+	
16	马口鱼	*Opsariichthys bidens*	+	+ (124)
17	草鱼*	*Ctenopharyngodon idella*	+	
18	大鳍鱼	*Macrochirichthys macrochirius*	+	
19	罗碧鱼	*Paralaubuca barroni*	+	+ (3)
20	线纹梅氏鳊	*Metzia lineata*	+	
21	䱗	*Hemiculter leucisculus*		+ (12)
22	大鳞半䱗	*Hemiculterella macrolepis*	+	+ (3)
23	团头鲂*	*Megalobrama amblycephala*	+	
24	鲢*	*Hypophthalmichthys molitrix*	+	
25	鳙*	*Hypophthalmichthys nobilis*	+	
26	花鱼骨	*Hemibarbus maculatus*	+	+ (9)
27	麦穗鱼*	*Pseudorasbora parva*		+ (15)
28	棒花鱼*	*Abbotina rivularis*	+	+ (3)
29	元江鳅鮀	*Gobiobotia yuanjiangensis*	+	
30	短须鱊	*Acheilognathus barbatulus*	+	
31	高体鳑鲏*	*Rhodeus ocellatus*	+	+ (23)
32	条纹小鲃	*Puntius semifasciolatus*	+	+ (32)
33	似野结鱼	*Tor tambroides*	+	
34	野结鱼	*Tor tambra*	+	+ (18)
35	中国结鱼	*Tor sinensis*	+	+ (13)
36	多鳞结鱼	*Tor polylepis*	+	
37	侧带结鱼	*Tor laterivittatus*	+	
38	瓣结鱼	*Folifer brevifilis*	+	
39	小盘齿鲃	*Discherodontus parvus*	+	
40	大鳞高须鱼	*Hypsibarbus vernayi*	+	+ (1)
41	云南吻孔鲃	*Poropuntius huangchuchieni*	+	+ (56)
42	棱吻孔鲃	*Poropuntius carinatus*	+	+ (1)

续表

编号 Serial number	中文名 Chinese name	拉丁名 Latin name	历史记录 Historical records	2008 年—至今采集记录(采集数量) Collection records (Collection number) since 2008
43	河口吻孔鲃	*Poropuntius krempfi*	+	
44	爪哇无名鲃	*Barbonymus gonionotus*	+	+ (3)
45	裂峡鲃	*Hampala macrolepidota*	+	+ (6)
46	细纹似鳡	*Luciocyprinus striolatus*	+	
47	红鳍方口鲃	*Cosmochilus cardinalis*	+	
48	南腊方口鲃	*Cosmochilus nanlaensis*	+	
49	短吻鱼	*Sikukia gudgeri*	+	+ (14)
50	黄尾短吻鱼	*Sikukia flavicaudata*	+	+ (51)
51	长须短吻鱼	*Sikukia longibarbata*	+	
52	后背鲈鲤	*Percocypris retrodorslis*	+	
53	南方白甲鱼	*Onychostoma gerlachi*	+	+ (49)
54	纺锤白甲鱼	*Onychostoma fusiforme*	+	
55	少鳞舟齿鱼	*Scaphiodonichthys acanthopterus*	+	+ (140)
56	短须圆唇鱼	*Cyclocheilichthys repasson*	+	
57	长臀鲃	*Mystacoleucus marginatus*	+	+ (52)
58	细尾长臀鲃	*Mystacoleucus lepturus*	+	+ (9)
59	皮氏野鲮	*Labeo pierrei*	+	
60	短吻孟加拉鲮	*Bangana brevirostris*	+	
61	脂孟加拉鲮	*Bangana lippa*	+	+ (7)
62	云南孟加拉鲮	*Bangana yunnanensis*	+	+ (2)
63	朱氏孟加拉鲮	*Bangana zhui*	+	
64	长背鲃	*Labiobarbus leptocheila*	+	
65	单吻鱼	*Henicorhynchus lineatus*	+	
66	网纹穗唇鲃	*Crossocheilus reticulatus*	+	+ (1)
67	舌唇鱼	*Lobocheilus melanotaenia*	+	
68	鲮	*Cirrhinus molitorella*	+	
69	缺须墨头鱼	*Garra imberba imberba*	+	+ (5)
70	条纹墨头鱼	*Garra taeniata*	+	+ (17)
71	奇额墨头鱼	*Garra mirofronits*	+	+ (551)
72	双角墨头鱼	*Garra bisangularis*	+	
73	澜沧湄公鱼	*Mekongina lancangensis*	+	
74	裸腹裂腹鱼	*Schizothorax nudiventris*	+	+ (1)
75	澜沧裂腹鱼	*Schizothorax lantsangensis*	+	+ (2)
76	光唇裂腹鱼	*Schizothorax lissolabiatus*	+	+ (2)
77	镰鲃鲤	*Puntioplites falcifer*	+	
78	爪哇鲃鲤	*Puntioplites waandersi*	+	
79	鲤	*Cyprinus carpio*	+	+ (60)
80	鲫	*Carassius auratus auratus*	+	+ (18)
	鳅科	Cobitidae		
81	马头鳅	*Acanthopsis choirorhyrchos*	+	
82	伯氏似鳞头鳅	*Lepidocephalichthys berdmorei*	+	+ (4)
83	赫氏似鳞头鳅	*Lepidocephalichthys hasselti*	+	
84	拟长鳅	*Acanthopsoides gracilis*	+	
85	泥鳅	*Misgurnus anguillicaudatus*	+	+ (1)
86	大鳞副泥鳅*	*Paramisgurnus dabryanus*	+	
	沙鳅科	Botiidae		
87	长腹华沙鳅	*Sinibotia longiventralis*	+	+ (1)
88	斑鳍连穗沙鳅	*Syncrossus beauforti*	+	
89	黑线安巴沙鳅	*Ambastaia nigrolineata*	+	+ (56)
	条鳅科	Nemacheilidae		
90	拟鳗副鳅	*Homatula anguillioides*	+	
91	密鳞副鳅	*Homatula pycnolepis*	+	
92	无量副鳅	*Homatula wuliangensis*	+	+ (34)
93	南方翅条鳅	*Pteronemacheilus meridionalis*	+	+ (30)
94	拉奥游鳔条鳅	*Physoshistura raoi*	+	

续表

编号 Serial number	中文名 Chinese name	拉丁名 Latin name	历史记录 Historical records	2008 年—至今采集记录(采集数量) Collection records (Collection number) since 2008
95	双江游鳔条鳅	*Physoschistura shuangjiangensis*	+	
96	异颌棱唇条鳅	*Sectoria heterognathos*	+	
97	湄南南鳅	*Schistura kengtungensis*	+	+ (850)
98	密带南鳅	*Schistura poculi*	+	
99	波托斯南鳅	*Schistura porthos*	+	
100	多鳞南鳅	*Schistura schultzi*	+	
101	六斑南鳅	*Schistura sexnubes*	+	
102	宽斑南鳅	*Schistura amplizona*	+	
103	鼓颊南鳅	*Schistura bucculenta*	+	+(1)
104	短头南鳅	*Schistura breviceps*	+	
105	锥吻南鳅	*Schistura conirostris*	+	+ (5)
106	隐斑南鳅	*Schistura cryptofasciata*	+	
107	横纹南鳅	*Schistura fasciolata*	+	
108	宽纹南鳅	*Schistura latifasciata*	+	+ (4)
109	大头南鳅	*Schistura macrocephalus*	+	
110	大嘴南鳅	*Schistura mgastoma*	+	
111	克氏南鳅	*Schistura kloetzliae*	+	+ (45)
112	棒状南鳅	*Schistura pertica*	+	
113	版纳南鳅	*Schistura bannaensis*	+	
114	瓦氏南鳅	*Schistura waltoni*	+	
115	细尾高原鳅	*Triplophysa stenura*	+	+ (25)
	爬鳅科	Balitoridae		
116	湄公河原缨口鳅	*Vanmanenia serrilineata*	+	
117	原缨口鳅待定种	*Vanmanenia sp.*	+	+(3)
118	澜沧江爬鳅	*Balitora lancangjiangensis*	+	
119	长体间吸鳅	*Hemimyzon elongata*	+	+(42)
120	彭氏间吸鳅	*Hemimyzon pengi*	+	
121	张氏间吸鳅	*Hemimyzon tchangi*	+	+ (44)
122	云南原爬鳅	*Balitoropsis yunnanensis*	+	+ (7)
123	原爬鳅	*Balitoropsis vulgaris*	+	
	鲇形目	SILURIFORMES		
	鲇科	Siluridae		
124	湄南细丝鲇	*Micronema moorei*	+	
125	缺须亮背鲇	*Phalacronotus apogon*	+	
126	滨河亮背鲇	*Phalacronotus bleekeri*	+	
127	叉尾鲇	*Wallago attu*	+	
128	湄公半鲇	*Hemisilurus mekongensis*	+	
	胡子鲇科	Clariidae		
129	胡子鲇	*Clarias fuscus*	+	+ (3)
130	蟾胡子鲇	*Clarias batrachus*	+	
	鱼芒科	Pangasidae		
131	长丝鱼芒	*Pangasius sanitwongsei*	+	
132	短须鱼芒	*Pangasius micronemus*	+	
133	贾巴鱼芒	*Pangasius djambal*	+	
	锡伯鲇科	Schilbidae		
134	中华鲱鲇	*Clupisoma sinensis*	+	+ (2)
135	长臀鲱鲇	*Clupisoma longianalis*	+	+ (12)
	粒鲇科	Akysidae		
136	中华粒鲇	*Akysis sinensis*	+	
137	短须粒鲇	*Akysis brachybarbatus*	+	
	鮠科	Bagridae		
138	丝尾鳠	*Hemibagrus wychioides*	+	+ (6)
	鮡科	Sisoridae		
139	鱼坯	*Bagarius bagarius*	+	+ (2)
140	巨鱼坯	*Bagarius yarrelli*	+	+ (5)

续表

编号 Serial number	中文名 Chinese name	拉丁名 Latin name	历史记录 Historical records	2008 年—至今采集记录(采集数量) Collection records (Collection number) since 2008
141	老挝纹胸鮡	*Glyptothorax laosensis*	+	+ (71)
142	纺锤纹胸鮡	*Glyptothorax fuscus*	+	
143	大斑纹胸鮡	*Glyptothorax macromaculatus*	+	+ (69)
144	长须纹胸鮡	*Glyptothorax longinema*	+	+ (1)
145	似黄斑褶鮡	*Pseudecheneis sulcatoides*	+	+ (4)
146	长背鮡	*Pareuchiloglanis prolixdorsalis*	+	
147	穗缘异齿鱼旻	*Oreoglanis setiger*	+	
148	景东异齿鱼旻	*Oreoglanis jingdongensis*	+	
	甲鲇科	Loricariidae		
149	下口鲇	*Hypostomus plecostomus*	+	
	颌针鱼目	BELONIFORMES		
	怪颌鳉科	Adrianichthyidae		
150	小青鳉	*Oryzias minutillus*	+	
	鳉形目	CYPRINODONTIFORMES		
	胎鳉科	Poeciliidae		
151	食蚊鱼*	Gambusia affinis	+	
	合鳃鱼目	SYNBRANCHIFORMES		
	合鳃鱼科	Synbranchidae		
152	黄鳝	*Monopterus albus*	+	+ (2)
	刺鳅科	Mastacebelidae		
153	大刺鳅	*Mastacembelus armatus*	+	+ (16)
	鲈形目	PERCIFORMES		
	丽鱼科	Cichlidae		
154	莫桑比克罗非鱼*	*Oreochromis mossambica*	+	
155	尼罗罗非鱼*	*Oreochromis nilotica*	+	+ (1)
	鱼畏虎鱼科	Gobiidae		
156	子陵吻鱼畏虎鱼	*Rhinogobius giurinus*	+	+ (55)
157	波氏吻鱼畏虎鱼	*Rhinogobius cliffordpopei*	+	
158	颈斑吻鱼畏虎鱼	*Rhinogobius maculicervix*	+	
	斗鱼科	Belontiidae		
159	叉尾斗鱼	*Macropodus opercularis*	+	
160	线足鲈	*Trichogaster trichopterus*	+	
	攀鲈科	Anabantidae	+	
161	攀鲈	*Anabas testudineus*	+	
	鳢科	Channidae		
162	宽额鳢	*Channa gachua*	+	+ (82)
163	线鳢	*Channa striatta*	+	
164	带鳢	*Channa lucius*	+	+ (1)
	鲀形目	TETRAODONTIFORMES		
	鲀科	Tetraodontidae		
165	湄公河鲀	*Monotrete turgidus*	+	+ (10)

动 物 学 研 究 2013，Dec. 34(6): 687−693　CN 53-1040/Q ISSN 0254-5853
Zoological Research　DOI:10.11813/j.issn.0254-5853.2013.6.0687

中国翼手目动物区系分类与分布研究进展、趋势与前景

刘志霄[1]，张佑祥[1]，张礼标[2,*]

1. 吉首大学 生物资源与环境科学学院, 吉首 416000
2. 广东省昆虫研究所, 广州 510260

摘要：21 世纪以来，中国在蝙蝠区系分类、分布及生存现状的调查与研究方面突飞猛进，大陆学者已发表 6 个新种和 11 个中国新记录种，台湾学者也发表了 4 个管鼻蝠新种，区系面貌渐趋明晰；人才队伍逐渐壮大，国内与国际合作日益增多；研究内容与方法日趋深化和综合；物种保护意识明显增强；我国翼手目动物的研究呈现欣欣向荣的景象。然而总体上，中国目前的翼手目动物调查与研究还需进一步深入和精细化，一些隐蔽种仍有待揭示，今后在中国广大区域内特别是边境区域还很有可能发现新种或某些蝙蝠物种新的分布；已知的一些物种可能要进行新的分类修订和新的描述；需要绘制新的分布图和进行新的区划研究，还需尽快建立专门的翼手目物种信息网络交流平台，进一步加强国内外更广泛的学术交流与合作。中国在翼手目动物的区系分类、分布与多样性研究方面可望形成新的强势，在 α、β、γ 分类研究水平上都将有许多新的作为。

关键词：翼手目（蝙蝠）区系；分类；分布；研究进展与趋势；中国
中图分类号：Q959.833；Q958.2　**文献标志码**：A　**文章编号**：0254-5853-(2013)06-0687-07

Research perspectives and achievements in taxonomy and distribution of bats in China

Zhi-Xiao LIU[1], You-Xiang ZHANG[1], Li-Biao ZHANG[2,*]

1. *College of Biology and Environmental Sciences*, *Jishou University*, *Jishou* 416000, *China*
2. *Guangdong Entomological Institute*, *Guangzhou* 510260, *China*

Abstract: Chinese chiropterologists have made significant improvements into research on bat taxonomy and distribution. Overall, scholars recorded 6 new species of bats, alongside 11 species recorded species in the Chinese Mainland and 4 new bat species of *Murina* in Taiwan. Chinese chiropterologists intensively cooperated with the international experts on bats, and adopted several new, multidisciplinary methods to carry out their studies. Likewise, in China, an increased awareness of bat conservation has been growing. Whilepublications on Chiroptera are continuing to increase increased in China, the methodology of these studies remains to be further developed in hopes of revealing the new and cryptic bat species. Considering the vast territory of China and the migrational habit of bats, we expect that with more refined methodology, more new species of bats and their distributions may be uncovered in the near future. Concurrently, it is important to reexamine the known species by the new taxonomic methods and fauna analysis through which the distribution and subdivision of bats can be updated. Additionally, an international platform for exchanging information of bats needs to be established to enhance the academic cooperation for bat researches. It is highly possible that China will soon become an important research center on taxonomy, distribution, phylogenetics and diversity evolution of Chiroptera, especially as Chinese researchers continues create new knowledge for bats at the α, β and γ taxonomic levels.

Keywords: Chiroptera (bat) fauna; Taxonomy; Distribution; Research progress and trend; China

翼手目（Chiroptera）动物俗称蝙蝠，是哺乳纲（Mammalia）中除啮齿目（Rodentia）以外的第一大目，广布于地球上除南极和北极以外的广大区域，但主要分布于常年比较温暖湿润的热带和亚热带地区。蝙蝠是能真正飞行的夜行性哺乳类动物，白天及冬眠期间栖居于岩洞、隧道、矿井、树洞、竹筒及房屋的缝隙间等栖息地中，食性非常多样，绝大多数主要捕食农林昆虫，也有主食果类、花蜜，

收稿日期：2013-05-13；接受日期：2013-10-28
基金项目：广州市珠江科技新星专项（2011J2200027）；广东省昆虫研究所优秀青年人才基金（GDEI-yxqn201101）
*通信作者（Corresponding author），E-mail: zhanglb@gdei.gd.cn
第一作者简介：刘志霄（1965−），男，博士，教授，主要从事动物学与保护生物学研究，E-mail: zxliu1965@163.com

甚至食鱼或以吸血为生的种类，在自然生态系统及生物多样性的维持与稳定中起着非常重要的作用；同时也是许多人畜共患病病源体的携带者，与人类关系非常密切，是人类生产与生活中必须认真面对的一大特殊类群（Wu & Hu, 2000；Zhang & Zhang, 2005；Zhang, 2009）。

对蝙蝠区系分类、分布及生存现状的调查与研究是一项基础性的工作，有利于人类对蝙蝠多样性的认识和物种保护计划的制订，也是深入研究其生理生化特征、生态习性与行为模式、遗传分化历史，以及人类疫病防控的理论依据与实践基础，一直受到国内外学者的高度重视。国际上已出版了许多分类学专著，其中《Mammal Species of the World》记述全球翼手目 18 科 201 属 1 107 种（Simmons, 2005），但因成书于 2002—2003 年，其后发表的新种未列入，而 Reeder et al（2007）最新统计，目前已知全球翼手目动物 1 133 种。事实上，我国学者近年在蝙蝠区系分类与分布研究方面又取得了丰硕的成果，为世界翼手类的深入研究做出了重要贡献。为进一步推进工作，现将自 2000 年以来所取得的进展与趋势作一简要综述。

1 研究方法

通过中国知网 www.cnki.net 和国家科技图书文献中心网络服务网 www.nstl.gov.cn 进行期刊论文查询。主要检索字段为（或篇名中包含）“翼手”；查询条件：全部馆藏，全部记录，出版年 2000—2012，模糊查询。在查询条件相同的情况下，再使用补充检索字段“蝙蝠”予以重查。为避免遗漏，经过了反复多次检索，并进一步扩大检索面，将检索字段设置为“蝠”进行检索。

综合所检索到的所有文献，选择篇名中包含主题词“分类”、“分布”、“新记录”或“新纪录”、“地理差异”、“系统发育”、“多样性调查”等明显与本研究相关的文献，剔除不相关的文献，而对于根据题目难于确定相关性的论文，则视论文中主要涉及的科学问题是否与“分类或分布”有关而予以取舍。

在所选择的文献中，排除科普、书讯或化石等方面的论文，对于以形态、生态、回声定位、核型、生理生化或分子生物学等方面为主体内容而不涉及蝙蝠分类与分布实际内容的论文也不纳入分析的范围。

对于以中国学者为第一作者的相关的外文文献则主要通过 www.nstl.gov.cn 的西文期刊检索功能与上述检索方式，结合对 ScienceDirect、Springlink 和 Web of Science 查询、作者赠送等积累的相关资料进行反复查检。

对于篇名中包含“兽类新记（或纪）录”的论文则依文中是否涉及翼手类新记录予以取舍。

将遴选出来的文献主要按研究内容的侧重点归为四类：I. 新种发表；II. 分布新记（纪）录报道；III. 一般性的资源调查、区系或多样性分析；IV. 综合性分类与系统发育研究。然后，再做进一步细化分析。

为了使分析具有可比性，我们还按以上检索方式查询了 2000 年以前的相关论文，并对这些文献进行了相应的遴选和归类整理。然后将所有这些期刊论文按年代进行归类编排，并用 Microsoft Excell 软件进行图示处理。

此外，为便于更广范围内综合把握有关信息，我们还查阅了自 1949 年以来我国大陆所出版的有关哺乳动物的学术专著、地方兽类志、兽类图谱、图鉴或手册中所涉及翼手目动物分类与分布的内容，以及网上我们可以检索到的相关的学位论文。同时，也简要分析了我国台湾蝙蝠学者的相关成就。

2 结果分析与讨论

2.1 论著的分布格局

共遴选到有关我国（大陆）翼手目区系分类与分布研究相关的期刊论文 131 篇（表 1），其中 21 世纪 96 篇，占 73.3%，年均 7.4 篇，约为之前年均篇数的 4～5 倍（表 1）， 4 种类型的论文数量都迅猛增长，尤其是新记录（包括中国新记录、省级新记录等）报道多达 49 篇，占论文总数的 51%。

自 2000 年以来，按年度发表的论文数量分布情况如图 1 所示，可见 13 年间几乎呈现出 3～4 年峰值逐渐增高的周期性（波浪型上升趋势），3 个峰值分别出现在 2002（5 篇）、2005（11 篇）和 2009 年（15 篇）。

解放后至文革前，我国（大陆）先后出版了几部重要的兽类学著作（Shou, 1958, 1962; Xia, 1964; Qian et al, 1965），其中记述了一些翼手目动物。文革期间对翼手目的研究则几乎处于停滞状态。自 1980 年代初期至 1990 年代中期，我国的兽类学研究进入了编写志书或名录的高峰阶段，书中都对翼手目动物作了记述。自 1990 年代后期起，应自然

表 1　我国（大陆）翼手目区系分类与分布期刊论文的分布情况

Table 1 Distribution of literature concerning the taxonomy and zoogeography of Chiroptera in China (Mainland) since 1949

论文类型 Type of literature	1949—1979	1980—1989	1990—1999	2000—2012
I	0	0	0	6
II	3	8	9	49
III	0	9	5	25
IV	0	1	0	16
总计（年均） Total (Average)	3	18 (1.8)	14 (1.4)	96 (7.4)

I：新种发表；II：新记录报道；III：一般性资源调查、区系或多样性分析；IV：综合性分类与系统发育研究。

I; New species described；II; National or Provincial new record documented；III; Chiroptera fauna or diversity investigation and analysis；IV; Integrative taxonomy and phylogenetic research.

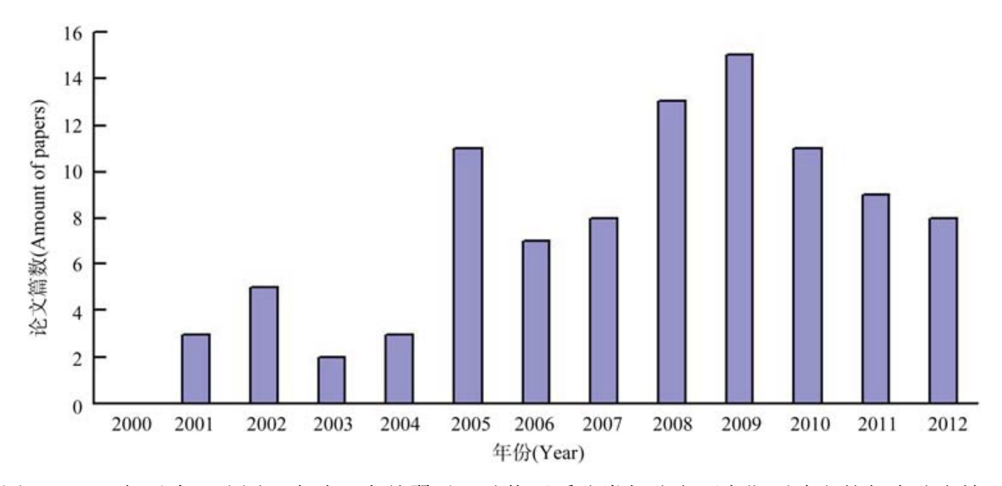


图 1　2000 年以来，我国（大陆）有关翼手目动物区系分类与分布研究期刊论文的年度分布情况

Figure 1　Yearly distribution of literature concerning the taxonomy and zoogeography of bats in China (Mainland) since 2000

保护事业发展的需要，我国的兽类学著作向着综合性与实用性的方向发展，陆续出版了一些图鉴、红皮书、分布大全及野外兽类识别手册。21 世纪以来，先后出版了《世界哺乳动物名典》（Wang et al, 2001）、《中国哺乳动物物种和亚种分类名录与分布大全》（Wang, 2003）、《中国物种红色名录》（Wang & Xie, 2004）、《中国哺乳动物图鉴》（Sheng, 2005）、《中国兽类识别手册》（Yan et al, 2006）、《中国兽类彩色图谱》（Yang & Yang, 2007）、《中国哺乳动物彩色图鉴》（Pan et al, 2007）、《中国兽类野外手册》（Smith & Xie, 2009）等著作，其中都对我国的翼手目动物进行了记述或图示。

2.2　发表了一些新种与新记录，区系概貌渐趋明晰

2007 年以前，大陆学者没有发表过翼手目动物新种，但自 2007 年以来已发表新种 6 个（表 1—2），年均发表 1 个新种。21 世纪之前，大陆学者共发表 3 个中国新记录种，即大狐蝠（*Pteropus giganteus*）（Wang & Wang, 1962）、缺齿鼠耳蝠（*Myotis annectans*）（Luo, 1987）、泰国狐蝠（*Pteropus lylei*）（He & Yang, 1991）。然而，自 2002 年 Zhao et al（2002）发表 21 世纪以来第一个翼手目中国新记录种——高鞍菊头蝠（*Rhinolophus paradoxolophus*）之后，也几乎以年均 1 个新记录的速度不断有新的发现（表 3）。

21 世纪以来，我国台湾学者在蝙蝠研究方面也取得了长足的进展。2002 年，发表了宽耳蝠（*Barbastelle leucomelas*）台湾新记录（Lin et al, 2002）。2004 年根据新的研究资料修订补充出版了《台湾的蝙

表 2　我国大陆学者以第一作者发表的翼手目新种

Table 2　New species of Chiroptera from China described by Chinese mainland Chiropterologists as the first author

物种名 Name of species	作者及发表时间 References
1．北京宽耳蝠 *Barbastella beijingensis*	Zhang *et al*, 2007
2．华南菊头蝠 *Rhinolophus huananus*	Wu *et al*, 2008
3．倭扁颅蝠 *Tylonycteris pygmaeus*	Feng *et al*, 2008
4．泰国菊头蝠 *R. thailandensis*	Wu *et al*, 2009
5．楔鞍菊头蝠 *R. xinanzhongguoensis*	Zhou *et al*, 2009
6．施氏菊头蝠 *R. schnitzler*	Wu & Thong, 2011

表 3 我国大陆学者自 2000 年以来发表的翼手目中国新记录种

Table 3 New record species of Chiroptera in China documented by Chinese mainland Chiropterologists since 2000

物种名 Name of species	作者及发表时间 References
1．高鞍菊头蝠 *Rhinolophus paradoxolophus*	Zhao *et al*, 2002
2．马氏菊头蝠 *R.marshalli*	Wu *et al*, 2004
3. 小巨足蝠 *Myotis hasseltii*	Zhang *et al*, 2004
4．小褐菊头蝠 *R.stheno*	Zhang *et al*, 2005
5. 无尾果蝠 *M.ecaudatus*	Feng *et al*, 2006
6. 泰国无尾果蝠 *M.niphanae*	Feng *et al*, 2006
7. 安氏长舌果蝠 *Macroglossus sobrinus*	Feng *et al*, 2007
8. 大趾鼠耳蝠 *Myotis macrodadylus*	Jiang *et al*, 2008
9．小蹄蝠 *Hipposideros cineraceus*	Tan *et al*, 2009
10．马来假吸血蝠 *Megaderma spasma*	Zhang *et al*, 2010
11．艾氏管鼻蝠 *Murina eleryi*	Zhang, 2010

蝠》第二版，同年成立了台湾蝙蝠学会；多位台大、东海及中山等大学的研究生以台湾蝙蝠的分类及亲缘关系为题，完成硕士或博士学位论文（Lin et al, 2004）。Kuo et al（2006）继发表金芒管鼻蝠（*Harpiola isodon*）新种之后，又同时发表了管鼻蝠属 3 个新种，即黄胸管鼻蝠（*Murina bicolor*）、姬管鼻蝠（*M. gracilis*）和隐姬管鼻蝠（*M. recondita*）（Kuo et al, 2009；Cheng et al, 2010）。

虽然在我国境内还将会有新种发现和新记录报道，但经过诸多学者的共同努力，我国翼手目物种多样性的概貌和区系特征已渐趋明晰。在我国的翼手目动物区系中，现已知鼠耳蝠属（*Myotis*）32 种、菊头蝠属（*Rhinolophus*）28 种、管鼻蝠属（*Murina*）17 种、伏翼属（*Pipistrellus*）11 种、蹄蝠属（*Hipposideros*）10 种，其他属种类较少，不超过 6 种。最近，Zhang（2010）对我国翼手目分类与分布的研究历史进行了比较系统的回顾，并基于“物种区系的属性原则”提出，中国已有记录的蝙蝠种类达 7 科 33 属 155 种，其中原生种 91 种、边缘种 27 种、存疑种 19 种、分布未定种 15 种、外来种 3 种。可见，我国翼手目动物的分类与分布仍存在很大的研究空间。

Ji & Chen（1990）曾通过划分小区和相关分析法，研究了我国翼手目物种密度与主要环境因素的关系，发现蝙蝠物种的分布密度一般随海拔和纬度的升高而递减，海拔 2000 m 以上的地区物种密度明显减少，物种密度分布与年均温呈正相关，与相对湿度呈半对数线性相关，与日照时数呈负相关，但密度最高处并非温湿度最高的地区，而是碳酸盐岩发达有丰富山洞地貌的低山丘陵区。Li et al（2005）研究表明，气候因子影响翼手目动物地理分布的机制是限制性因子的作用，植被类型对翼手目的种数分布没有明显影响，具有多洞穴特点的喀斯特岩溶地貌具有较多的翼手目种类，而红层地貌具有最高的翼手目种数密度。

2.3 人才队伍逐渐壮大，国内与国际合作日益增多

要做好翼手目的分类和区系研究，需要积累大量的资料、标本和工作经验，当然尤其离不开稳定的经费支持。鉴于学科发展的历史因素，有关我国翼手目分类与分布的文献和模式标本散布于国外，这给我国翼手目区系分类研究带来了极大的困难。在老一辈兽类学工作者的关心和培育下，21 世纪以来我国翼手目研究队伍逐渐壮大，不仅积累了较多的标本、资料和经验，而且充分发挥我国翼手目资源的优势，进行广泛的国内与国际合作研究，不断取得新的进展。

吴毅教授自 1980 年代以来长期专注于翼手目分类学研究，对四川、广东、海南等省区的翼手目动物进行了比较系统的标本采集和系统研究，报道了数十个省级新记录种，近年还在国家自然科学基金的连续资助下与日本、越南的同行专家合作发表了 3 个新种（表 2）。

自 1999 至 2008 年间，张树义博士领导的翼手目研究团队在中国科学院、华东师范大学、国家自然科学基金委和英国皇家学会的联合资助下主要针对我国南方、西南和东南诸省进行大范围内比较系统的蝙蝠资源调查，总计鉴别了至少 62 种，并对狐蝠科、蹄蝠科和菊头蝠科的分类与分布问题进行比较系统的述评，发表了由中国大陆学者命名的首个翼手目新种——北京宽耳蝠（*Barbastella beijingensis*）（Zhang et al, 2007）和一些中国新记录种（表 2—3），还提出了一些有待今后深入研究的重要分类学问题，如丽江菊头蝠（*R. osgoodi*）和短翼菊头蝠（*R. lepidus*）可能是同一个种；高鞍菊头蝠（*R. paradoxolophus*）可最好被当作是贵州菊头蝠（*R. rex*）的一个亚种；华南菊头蝠（*R. huananus*）可能是泰国菊头蝠（*R. siamensis*）的同物异名；中华菊头蝠（*R. sinicus*）与托氏菊头蝠（*R. thomasi*）是否为不同的种等（Zhang et al, 2009; Zhang et al, 2010）。

中国科学院昆明动物研究所的 Zhou et al

（2009）在国家基础研究项目经费的支持下与加拿大和墨西哥的蝙蝠研究专家合作，共同发表了隶属于非洲−古北区线系（Afro-Palearctic lineage）的楔鞍菊头蝠（*R. xinanzhongguoensis*），该新种在我国西南地区的发现表明菊头蝠属的生物地理历史面貌比我们之前所认识的要复杂得多。昆明动物所的Feng et al（2008）在国内外同行专家的支持和帮助下也发表了新种倭扁颅蝠（*Tylonycteris pygmaeus*）。

此外，东北师范大学的冯江教授在国家自然科学基金的资助下与获得俄罗斯基础研究基金资助的俄罗斯科学院的蝙蝠研究专家合作，对采自我国云南省 4 个洞穴中的高颅鼠耳蝠（*Myotis siligorensis*）进行研究，主要基于阴茎骨的形态特征和颅骨量度的主成分分析鉴别了一个新种，即栗色鼠耳蝠（*M. badius*）（Tiunov et al, 2011）。

综观近年来的研究文献，许多省区都有了专门的翼手目动物研究组和学术带头人，国内同行之间的合作也越来越广泛和深入，我国翼手目动物的研究呈现欣欣向荣的景象。

2.4 研究内容与方法日趋深化和综合

与其他的哺乳动物类群相比，翼手目的分类研究相对滞后。在曾经很长一段时间普遍认为兽类很难有新种发现的学界共识背景下，自 1992 年以来全球范围内已发表 78 个翼手目新种，且估计今后发表的新种数仍在 70 种以上（Reeder et al, 2007）。翼手目新种的发现不仅得益于调查与捕捉方法的更新（如竖琴网的使用），而且受益于 DNA、回声定位超声波、染色体与计算机统计分析等技术的广泛应用。综合技术的运用使得传统形态学研究方法不易区分的物种有了鉴别的可能。

事实上，许多隐蔽种的发现就是综合研究技术运用的结果，我国在这方面已经有了好的研究范例。Li et al （2006） 对采自中国大陆的小菊头蝠（*R. pusillus*）、台湾的单角菊头蝠（*R. monoceros*）、日本主岛的角菊头蝠（*R. cornutus*）及冲绳岛的角菊头蝠琉球亚种（*R. c. pumilus*）的线粒体细胞色素 b 基因的全序列和控制区序列进行支序分析，并结合体型大小及回声定位声波频率的比较，提出最好将它们视为不同的地理亚种而非独立物种的观点。Sun et al（2008）对分布于江西省 Shiyan 洞的大耳菊头蝠（*R. macrotis*）的形态特征、超声波主频率和细胞色素 b 基因的序列进行比较分析，结果发现了菊头蝠的一个隐蔽种。Sun et al（2009）还采用DNA 分析技术对分布于我国的 32 个菊头蝠科和蹄蝠科的物种进行比较研究，发现小蹄蝠（或果树蹄蝠）（*Hipposideros pomona*）、无尾蹄蝠（*Coelops frithi*）和三叶小蹄蝠（*Aselliscus stoliczkanus*）这 3 个物种的种内线粒体细胞色素 b 基因的差异高达5%以上，这预示着它们可能存在隐性多样性（cryptic diversity），另一方面形态上存在明显差异的两个物种，如大耳菊头蝠种组（*R. macrotis* group）物种之间的序列差异却很低（0.79%—1.06%）。

更值得注意的是，从发表在国内期刊上的论文来看，即使是省级新记录的报道也已不再是内容单一的形态学描述，也多涉及到形态学数据的多变量比较分析，以及染色体组型、阴茎骨的特征或超声波频率特征等综合性的内容。

2.5 标本采集过程中物种保护意识明显增强

鉴于翼手目动物特殊的生活习性和生活方式，民众往往对其缺乏足够的认识和了解，甚至因产生误解而驱逐或捕杀蝙蝠，破坏蝙蝠资源。

21 世纪以来，我国的蝙蝠研究学者一方面加强了科普宣传教育，积极撰写科普文章，向公众介绍蝙蝠在生态系统中的作用和保护价值（Wu & Hu, 2000; Zhang & Zhang, 2005; Zhang, 2009），另一方面考虑到蝙蝠的繁殖率低，种群增长缓慢，在野外考察过程中，养成了尽量少采标本，在捕捉到蝙蝠活体时及时现场测量有关数据之后在原地放生，或仅用打孔器采取翼膜小圆片（不影响其正常生活）的良好习惯，以身作则地保护蝙蝠种群，努力使得对蝙蝠种群的干扰降到最低。

保护蝙蝠，非损伤性或无害性取样，不仅是全球生物多样性与生态系统保护的需要，也是国际动物伦理学发展的必然要求，蝙蝠区系分类与分布研究专家理应而且能够起到很好的表率作用，并且还可能创造新的非损伤性取样方法与研究模式。

2.6 我国翼手目区系分类与分布研究前景

管鼻蝠通常体型较小，且主要栖息于树洞中，野外调查难于发现，随着竖琴网在野外调查中使用频率的增加，越来越多的管鼻蝠新种被发现。自2005 年以来，Eger & Lim（2011）已经从 19 个已知种中鉴别出了 8 个独立的种，并且还从 2004 至2007 年间采自中国南方的管鼻蝠中描述了 3 个新种，这些种不仅在毛色、体型大小、头骨形状、齿型及量度方面与以往描述的种类不同，而且线粒体DNA 细胞色素 C 氧化酶亚基的序列差异也支持其

为不同的种。他们的研究还表明，分布于亚洲的管鼻蝠种类被低估了50%以上。迄今，加之我们近年发现的艾氏管鼻蝠（*Murina eleryi*），分布于我国的管鼻蝠总计 17 种，但管鼻蝠新种及新记录仍有可能在我国境内发现。

总的说来，我国目前的翼手目动物调查与研究还需进一步深入和精细化，一些隐蔽种仍有待揭示。另一方面，蝙蝠具有飞行能力，许多种类有迁徙习性，但随着东南亚各国经济开发与环境保护日益突出的矛盾和我国对生态环境保护的重视与生态环境的改善，加之我国地域辽阔以及全球气候变化（如随着全球气候变暖对蝙蝠分布的影响，一些南方分布的蝙蝠不断在北方被发现）等因素，原分布于东南亚及周边国家的蝙蝠也可能迁飞到我国境内生活或定居。因此，今后在我国广大区域内，特别是边境区域，还很有可能发现新种或某些蝙蝠物种新的分布。同时，随着 DNA 分析技术的广泛应用，以及超声波、染色体等方面的综合技术研究，已知的一些物种可能要进行新的分类修订和新的描述。而且随着资料的进一步积累，需要绘制新的分布图和进行新的区划研究，还需尽快建立专门的翼手目物种信息网络交流平台，进一步加强国内外更广泛的学术交流与合作。总之，我国在翼手目动物的分类、分布与多样性研究方面可望形成新的强势，在 α、β 和 γ 分类研究水平上都将有许多新的作为。

致谢：承蒙广州大学生命科学学院吴毅教授、东北师范大学冯江教授和江廷磊博士、中国科学院昆明动物研究所王应祥先生给予鼓励、支持并馈赠文献，吉首大学生物资源与环境科学学院研究生李艳丽、邵永刚协助查阅了部分文献，华东师范大学 Yi-Hsuan Pan 副教授修改英文摘要，谨致谢忱。

参考文献：

Cheng HC, Fang YP, Chou CH. 2010. A Photographic Guide to the Bats of Taiwan. Taipei: The Agriculture Committee Taiwan Endemic Species Research Institute. [郑锡奇, 方引平, 周政翰. 2010. 台湾蝙蝠图鉴. 台北: 行政院农业委员会特有生物研究保育中心.]

Eger JL, Lim BK. 2011. Three new species of *Murina* from southern China (Chiroptera: Vespertilionidae). *Acta Chiropterologica,* **13**(2): 227-243.

Feng Q, Wang YX, Lin S. 2007. Notes of Greater long-tongued fruit bat *Macroglossus sobrinus* in China. *Zoological Research,* **28**(6): 647-653. [冯庆, 王应祥, 林苏. 2007. 中国安氏长舌果蝠的分类记述. 动物学研究, **28**(6): 647-653.]

Feng Q, Li S, Wang Y X. 2008. A new species of bamboo bat (Chiroptera: Vespertilionidae: *Tylonycteris*) from Southwestern China. *Zoological Science,* **25**(2): 225-234.

Feng Q, Jiang XL, Li S, Wang YX. 2006. A new record genus *Megaerops* and its two species of bat in China (Chiroptera, Pteropodidae). *Acta Zootaxonomica Sinica,* **31**(1): 224-230. [冯庆, 蒋学龙, 李松, 王应祥. 2006. 中国翼手类一属、种新纪录. 动物分类学报, **31**(1): 224-230.]

He XL, Yang BL. 1991. A new record of Chinese bat from Kunming of Yunnan - *Pteropus lylei* K. Andesen. *Acta Theriologica Sinica,* **11**(1): 71-72. [何晓瑞, 杨白仑. 1991. 中国翼手类一新记录——泰国狐蝠. 兽类学报, **11**(1): 71-72.]

Ji WH, Chen FG. 1990. The relationship between the species density of Chiroptera and environmental factor. *Acta Theriologica Sinica,* **10**(1): 23-30. [纪维红, 陈服官. 1990. 翼手目物种密度分布与环境因素的关系. 兽类学报, **10**(1): 23-30.]

Jiang TL, Liu Y, Feng J. 2008. A new Chinese record species. *Acta Zootaxonomica Sinica,* 33(1): 212-216. [江廷磊, 刘颖, 冯江. 2008. 中国翼手类一新纪录种. 动物分类学报, **33**(1): 212-216.]

Kuo HC, Fang YP, Csorba G, Lee LL. 2006. The definition of *Harpiola* (Vespertilionidae: Murininae) and the description of a new species from Taiwan. *Acta Chiropterologica,* **8**(1): 11-19.

Kuo HC, Fang YP, Csorba G, Lee LL. 2009. Three new species of *Murina* (Chiroptera: Vespertilionidae) from Taiwan. *Journal of Mammalogy,* **90**(4): 980-991.

Li G, Jones G, Rossiter SJ, Chen SF, Parsons S, Zhang SY. 2006. Phylogenetics of small horseshoe bats from East Asia based on mitochondrial DNA sequence variation. *Journal of Mammalogy,* **87**(6): 1234-1240.

Li YC, Meng YH, Zhang LC, Ye Q. 2005. Analysis of environmental factors on geographical distribution of Chinese Chiroptera. *Acta Zoologica Sinica,* **51**(3): 413-422. [李玉春, 蒙以航, 张利存, 叶青. 2005. 中国翼手目地理分布的环境因子影响分析. 动物学报, **51**(3): 413-422.]

Lin LK, Motokawa M, Cheng HC. 2002. New record of *Barbastella leucomelas* (Chiroptera: Vespertilionidae) from Taiwan. *Mammalian Biology,* **67**: 315-319.

Lin LK, Lee LL, Zhen XQ. 2004. Bats of Taiwan. Taizhong: National Museum of Natural Science.

Luo YN. 1987. A new record of mammal in China-*Myotis annectans* in Yunnan. *Acta Theriologica Sinica,* **7**(2): 159. [罗一宁. 我国兽类新记录——缺齿鼠耳蝠. 兽类学报, **7**(2): 159.]

Pan QH, Wang YX, Yan K. 2007. A Field Guide to the Mammals of China. Beijing: China Forestry Publishing House. [潘清华, 王应祥, 岩崑. 2007. 中国哺乳动物彩色图鉴. 北京: 中国林业出版社.]

Qian YW, Zhang J, Wang S, Zhang BL, Guan GX, Shen XZ. 1965. Birds and Mammals in Southern Xinjiang. Beijing: Science Press. [钱燕文, 张洁, 汪松, 关贯赉, 沈孝宙. 1965. 新疆南部的鸟兽. 北京: 科学出版社.]

Reeder DM, Helgen KM, Wilson DE. 2007. Global trends and biases in new mammal species discoveries. *Occasional Papers, Museum of Texas Tech*

University, **269**(8): 1-35.

Sheng H L. 2005. Atlas of Mammals of China. Zhengzhou: He’nan Science and Technology Press. [盛和林. 2005. 中国哺乳动物图鉴. 郑州: 河南科学技术出版社.]

Simmons NB. 2005. Order Chiroptera. *In:* Wilson DE, Reeder DM, eds. Mammal Species of the World: a Taxonomic and Geographic Reference. 3rd ed. Baltimore, Maryland: Johns Hopkins University Press, 312-529.

Shou ZH. 1958. Survey Report on Mammals of Northeast China. Beijing: Science Press. [寿振黄. 1958. 东北兽类调查报告. 北京: 科学出版社.]

Shou ZH. 1962. Economic Fauna of China: Mammals. Beijing: Science Press. [寿振黄. 1962. 中国经济动物志: 兽类. 北京: 科学出版社.]

Smith AT, Xie Y. 2009. A Guide to the Mammals of China. Changsha: Hunan Education Press. [史密斯, 解焱. 2009. 中国兽类野外手册. 长沙: 湖南教育出版社.]

Sun KP, Feng J, Zhang ZZ, Xu LJ, Liu Y. 2009. Cryptic diversity in Chinese rhinolophids and hipposiderids (Chiroptera: Rhinolophidae and Hipposideridae). *Mammalia,* **73**(2): 135-141.

Sun KP, Feng J, Jiang TL, Ma J, Zhang ZZ, Jin LR. 2008. A new cryptic species of *Rhinolophus macrotis* (Chiroptera: Rhinolophidae) from Jiangxi Province, China. *Acta Chiropterologica,* **10**(1): 1-10.

Tan M, Zhu GJ, Hong TY, Ye JP, Zhang LB. 2009. New record of a bat species from China, *Hipposideros cineraceus* (Blyth, 1853). *Zoological Research,* **30**(2): 204-208. [谭敏, 朱光剑, 洪体玉, 叶建平, 张礼标. 2009. 中国翼手类新记录——小蹄蝠. 动物学研究, **30**(2): 204-208.]

Tiunov MP, Kruskop SV, Feng J. 2011. A new mouse-eared bat (Mammalia: Chiroptera: Vespertilionidae) from South China. *Acta Chiropterologica,* **13**(2): 271-278.

Wang CW, Wang S. 1962. The discovery of a flying fox (*Pteropus giganteus* Briinnich) from Chin-Hai Province, Northwestern China. *Acta Zoologica Sinica,* **14**(4): 494. [王宗禕, 汪松. 1962. 青海发现的大狐蝠 (*Pteropus giganteus* Brünnich). 动物学报, **14**(4): 494.]

Wang S, Xie Y, Wang JJ. 2001. A Dictionary of Mammalian Names. Changsha: Hunan Education Press. [汪松, 解焱, 王家骏. 2001. 世界哺乳动物名典. 长沙: 湖南教育出版社.]

Wang S, Xie Y. 2004. China Species Red List. Beijing: Higher Education Press. [汪松, 解焱. 2004. 中国物种红色名录. 北京: 高等教育出版社.]

Wang YX. 2003. A Complete Checklist of Mammal Species and Subspecies in China: a Taxonomic and Geographic Reference. Beijing: China Forestry Publishing House. [王应祥. 2003. 中国哺乳动物种和亚种分类名录与分布大全. 北京: 中国林业出版社.]

Wu Y, Hu JC. 2000. Preliminary study of the effects of human activity on the habitat of bats. *Journal of Guangzhou Normal University: Natural Science Edition,* **21**(3): 60-64. [吴毅, 胡锦矗. 2000. 人类活动对翼手类生存环境的影响. 广州师院学报: 自然科学版, **21**(3): 60-64.]

Wu Y, Thong VD. 2011. A new species of *Rhinolophus* (Chiroptera: Rhinolophidae) from China. *Zoological Science,* **28**(3): 235-241.

Wu Y, Motokawa M, Harada M. 2008. A new species of horseshoe bat of the genus *Rhinolophus* from China (Chiroptera: Rhinolophidae). *Zoological Science,* **25**(4): 438-443.

Wu Y, Harada M, Morokawa M. 2009. Taxonomy of *Rhinolophus yunanensis* Dobson, 1872 (Chiroptera: Rhinolophidae) with a description of a new species from Thailand. *Acta Chiropterologica,* **11**(2): 237-246.

Wu Y, Yang QS, Xia L, Peng HY, Zhou ZM. 2004. New record of Chinese bats: *Rhinolophus marshalli*. *Chinese Journal of Zoology,* **39**(5): 109-110. [吴毅, 杨奇森, 夏霖, 彭洪元, 周昭敏. 2004. 中国蝙蝠新记录——马氏菊头蝠. 动物学杂志, **39**(5): 109-110.]

Xia WP. 1964. Atlas of Chinese Mammals. Beijing: Science Press. [夏武平. 1964. 中国动物图谱: 兽类. 北京: 科学出版社.]

Yan K, Meng XL, Yang QS. 2006. Identification Manual for Mammals in China. [岩崑, 孟宪林, 杨奇森. 2006. 中国兽类识别手册. 北京: 中国林业出版社.]

Yang QS, Yang K. 2007. Color Atlas of Mammals of China. Beijing: Science Press. [杨奇森, 岩崑. 2007. 中国兽类彩色图谱. 北京: 中国林业出版社.]

Zhang JS. 2010. The Bats (Mammalia: Chiroptera) of China: An Integrative Approach to the Taxonomy. Ph. D. thesis, Graduate University of the Chinese Academy of Sciences, 148-152. [张劲硕. 2010. 中国蝙蝠(哺乳纲: 翼手目)分类的综合研究. 博士学位论文, 中国科学院研究生院, 148-152.]

Zhang JS, Zhang LB, Zhao HH, Liang B, Zhang SY. 2005. First record of Chinese bats: *Rhinolophus stheno*. *Chinese Journal of Zoology,* **40**(2): 96-98. [张劲硕, 张礼标, 赵辉华, 梁冰, 张树义. 2005b. 中国翼手类新记录——小褐菊头蝠. 动物学杂志, **40**(2): 96-98.]

Zhang JS, Gareth J, Zhang LB, Zhu GJ, Zhang SY. 2010. Recent surveys of bats (Mammalia: Chiroptera) from China Ⅱ. Pteropodidae. *Acta Chiropterologica,* **12**(1): 103-116.

Zhang JS, Han NJ, Jones G, Lin LK, Zhang JP, Zhu GJ, Huang DW, Zhang SY. 2007. A new species of *Barbastella* (Chiroptera: Vespertilionidae) from North China. *Journal of Mammalogy,* **88**(6): 1393-1403.

Zhang LB, Zhang JS, Liang B, Zhang SY. 2004. New record of a bat species from China, *Myotis hasseltis* (Temminck, 1840). *Zoological Research,* **25**(6): 556-559. [张礼标, 张劲硕, 梁冰, 张树义. 2004. 中国翼手类新记录——小巨足蝠. 动物学研究, **25**(6): 556-559.]

Zhang LB, Gong YY, Zhu GJ, Hong TY, Zhao ZD, Mao XG. 2010. New record of a bat species from China, *Megaderma spasma* (Linnaeus, 1758). *Zoological Research,* **31**(3): 328-332. [张礼标, 巩艳艳, 朱光剑, 洪体玉, 赵旭东, 毛秀光. 2010. 中国翼手目新记录——马来假吸血蝠. 动物学研究, **31**(3): 328-332.]

Zhang LB, Jones G, Zhang JS, Zhu GJ, Parsons S, Rossiter SJ, Zhang SY. 2009. Recent surveys of bats (Mammalia: Chiroptera) from China. I. Rhinolophidae and Hipposideridae. *Acta Chiropterologica,* **11**(1): 71-88.

Zhang SY. 2009. Recent progress on bat studies in China and the future perspective. *Bulletin of National Natural Science Foundation of China,* **23**(5): 265-268. [张树义. 2009. 我国近年来关于蝙蝠的研究进展及对未来的展望. 中国科学基金, **23**(5): 265-268.]

Zhang SY, Zhang JS. 2005. The family of bats. *Life World,* (12): 72-73. [张树义, 张劲硕. 2005. 蝙蝠家族. 生命世界, (12): 72-73.]

Zhao HH, Zhang SY, Zhou J, Liu ZM. 2002. New record of bats from: *Rhinolophus paradoxolophus*. *Acta Theriologica Sinica,* **22**(1): 74-76. [赵辉华, 张树义, 周江, 刘自民. 2002. 中国翼手类新记录——高鞍菊头蝠. 兽类学报, **22**(1): 74-76.]

Zhou ZM, Guillén SA, Lim BK, Eger JL, Wang YX, Jiang XL. 2009. A new species from southwestern China in the Afro-Palearctic lineage of the horseshoe bats (*Rhinolophus*). *Journal of Mammalogy,* **90**(1):57-73.

动 物 学 研 究 2013，Dec. 34(6): 694−699 CN 53-1040/Q ISSN 0254-5853
Zoological Research DOI:10.11813/j.issn.0254-5853.2013.6.0694

牛虻作为中药药材的认知及其利用

莫国香[1,2,*]，王思明[2]

1. 南京农业大学 人文社会科学学院，南京 210095
2. 南京农业大学 生命科学学院，南京 210095

摘要：动物药生物活性强、显效快，是中国医药学的重要组成部分，历来以“血肉有情”之品而备受重视。昆虫类中药药材在中国传统药物研究和利用中占有重要地位，特别是在治疗现代文明病和肿瘤方面具独特疗效。代表性昆虫类中药药材包括虻虫（牛虻）、斑蝥及美洲大蠊（*Periplaneta americana*）等，因具有显著抗血栓、治疗肿瘤等功效而得到长期应用。其药用功能和物质基础认知经历了从简单肤浅到深入清晰的过程，其利用也经历了由野外捕捉到人工规模化养殖、纯种品系培育，由简单、粗放加工全虫到精细利用单一成分、去害存益的历程。该文通过对牛虻的认识和利用变迁历程的初步梳理，揭示传统中药研究和应用与西药研发的相互影响，为中药现代化模式提供参考。

关键词：中药；牛虻；认知；生物活性物质
中图分类号：Q969.44 **文献标志码**：A **文章编号**：0254-5853-(2013)06-0694-06

Functional identification and application of horsefly as a representative form of traditional Chinese medicine

Guo-Xiang MO[1,2,*], Si-Ming WANG[2]

1. *Nanjing Agricultural University*, *School of Humanities & Social Sciences*, *Nanjing* 210095, *China*
2. *Nanjing Agricultural University*, *School of Life Sciences, Nanjing* 210095, *China*

Abstract: As important traditional Chinese medicine materials, medicinal animals have been highly appreciated due to their strong bioactivities. Among these, medicinal insects have been thought to be significant, especially in preventing and treating modern diseases and tumors. Some of the most famous medicinal insects, such as horseflies, blister beetles and American cockroachs (*Periplaneta americana*) have been well known due to their reported effects in anti-thrombosis and fighting cancer. In general, identifying the medicinal functions and active components of medicinal insects has been a gradual processes. Originally, these medicinal insects were collected from open fields and usually their whole bodies were adopted. But, currently, most medicinal insects are under large-scale artificial propagations and only their purified active components are in use. In this article, we reviewed the historical process of the application of the horsefly in traditional Chinese medicine and tried to provide useful references for the modernization of traditional Chinese medicines via discussing the interrelationship between traditional Chinese medicine and western medicine.

Keywords: Traditional Chinese medicine; Horsefly; Identification; Bioactive substance

1 牛虻作为中药药材及其功效的认知历史

1.1 虻虫作为中药药材的认知历史

牛虻（*Tabanus*）在我国不同历史时期和不同地域具有不同名称，最初被记载于《神农本草经》，名为蜚虻，后在《神农本草经集注》中被称为虻虫，在中国不同区域，又被称为夏带虻、牛苍蝇、牛蚊子、瞎蠓、牛魔蚊、绿头猛钻、瞎虻虫及吓蚂蜂等。现代生物学证明，牛虻是虻科昆虫的总称，隶属昆虫纲（Insecta）双翅目（Diptera）短角亚目（Brachycera）虻科（Tabanidae）（Jiang et al，1979; Mou et al，1996)。现代生物分类学证明，在中国至

收稿日期：2013-04-23；接受日期：2013-06-21
*通信作者（Corresponding author），E-mail: gxmo74@yahoo.com

少有 9 种牛虻中药药材，即双斑黄虻（*Atylotus bivittateinus*）、华虻（*Aabanas mandarinus*）、雁虻（*Tabanus pleskei*）、佛光虻（*Tabanus budda port*）、江苏虻（*Tabanus kiangsuensis*）、鹿虻（*Tabanus chrycurus*）、姚虻（*Tabanus yao*）、峨眉山虻（*Tabanus omeishanensis*）及黛虻（*Tabanus trigeminus*）（Jiang et al，1979）。很可能正是由于这些不同的牛虻分布于我国的不同地域且形态特征各异，从而出现了不同的名称。现代分子生物学研究为这类药材的品系鉴定、种质起源、标准制定及纯药材资源保障提供了重要基础（Chen et al，2006）。

1.2 虻虫功效认知的历史进程

1.2.1 直观药材生活习性、推想可能药效

牛虻最初记载于《神农本草经》，其功效为："主逐瘀血、破血积、坚痞、症瘕、寒热、通利血脉及九窍"。《本草纲目》记载其药用功能为："逐瘀、消癥、通经"。由于古时缺乏现代药物学、药理学、生物化学及化学等研究手段，无法对该药材的具体药用功能进行研究和认识，只能通过直观观察此类药材本身的生活习性从而推想其可能的功能。当时的药物学家很可能观察到牛虻作为一类专门吸血的昆虫，可以吸食牛、人等动物体内的血液而不会在吸血伤口形成血栓，且吸饱血液后也不会在自身体内形成血栓，从而认为牛虻应具逐瘀血、破血积及通窍等功能。

历史记载的一些牛虻单方或者复方中药及其应用或多或少地证明了上述推想。唐朝孙思邈的《千金方》中记载用牛虻为主药治疗腕折瘀血，"虻虫二十枚、牡丹一两，上二味，治下筛，酒服用方寸匕，血化为水"。宋朝陈自明的《妇人大全良方》记载用牛虻为主药治疗月经不畅，"熟地黄四两、虻虫、水蛭、桃仁各五十枚，上为末，蜜丸桐子，每服五、七丸，空心、温酒下"。从该复方中也可看出，另外一种吸血虫类药材（水蛭）被用于与牛虻配伍组方。这也再次证实了古人通过观察吸血药材本身的生活习性而推想其具有逐瘀、破血功能。其他一些古方中也记载了吸血类虫药配伍用来治疗这类疾病的案例，如《伤寒论》中记载虻虫、水蛭及桃仁配伍治疗太阳病、脉沉结及小便不通。现代临床应用中，也有大量以吸血类虫药配伍治疗血栓、动脉硬化等疾病的案例和中成药。如 Wu（1992）报道以牛虻和水蛭为主的中成药（消栓通胶囊剂）治疗脑血栓、脑栓塞效果理想。Zhang et al（2010）报道以牛虻、水蛭为主药的抵挡汤可用于改善瘀血严重之肝昏迷，有助于神智清醒。

1.2.2 现代医学和药学的发展拓宽其临床适应症

由于认知和研究手段的局限及其专性吸血生活习性的直观思维模式限制，牛虻的传统药效和临床适应症范畴基本上未跳出血栓、血瘀等心脑血管疾病范畴。随着医学的进步、研究手段的多样化、对疾病谱认知的拓宽以及更多经验的积累，牛虻的药用价值得到了进一步挖掘，对其药效有更多的认知，其临床适应症被显著拓展。除用于心脑血管疾病治疗外，牛虻在发炎性疾病、神经系统疾病及免疫系统疾病治疗等方面也崭露头角。Zhou（1983）报道，以牛虻、水蛭为主药的抵挡汤治疗慢性前列腺炎取得了良好效果，15 例病例中，12 例治愈、2 例好转，仅 1 例无效。Chi（1986）报道牛虻的酒精浸泡液可用于治疗银屑病。

1.2.3 现代医药学的发展和对健康的更高要求促使人们对中药毒副作用关注

传统观点不客观地认为，中药无毒副作用或毒副作用低于西药。牛虻作为用途广泛和高使用频率的中药材，其副作用最近才受到关注。Shen & Wang（1996）发现一名肩部被牛虻叮咬的 15 岁患者，出现了全身皮肤潮红、瘙痒及头昏等症状，及并发昏迷、大小便失禁。该严重过敏反应说明，牛虻存在导致过敏反应的风险。事实上，最新研究表明，牛虻唾液腺中含有大量过敏原，以下将对此内容予以详细介绍。

2 虻虫药效的药理认知进程

2.1 初提混合物的药理学研究

作为中药药材，虻虫的传统施用方式为全体入药，主要通过水煎提取有效成分。该方式所提取的物质成分复杂，药理作用表现为众多成分的综合效应，且由于各成分间的相互作用，部分药理作用可能被掩盖或放大，并造成假象。虻虫初步提取物的药理作用主要有以下两方面的报告：（1）影响凝血和纤溶系统，虻虫提取物在体外具有弱的抗凝血酶作用，可通过激活纤溶酶原而发挥溶解纤维蛋白原的作用，从而延长大鼠出血时间，同时，还具有抑制血小板聚集的功能，据此，研究人员得出结论，虻虫对血液系统的影响主要通过作用于纤维蛋白原和血小板（Chen et al，1990）而实现；（2）镇痛、抗炎，醋酸诱导的小鼠扭体实验和小鼠热板实验表

明，虻虫水提液可提高小鼠对痛觉反应的耐受能力，同时，该水提取液具有抗炎效果，对这类药理作用的解释是，虻虫水提液可能通过改善血液循环而达到“通则不痛”的功效（Li et al，2010）。事实上，由于历史和技术局限，上述两方面的药理学观察并未能真正揭示虻虫功效的药理学机制，有些结论甚至是错误的。

2.2 单一纯品成分的药理学进展

最初的虻虫药理学研究着眼于由众多成分组成的全虫粗提物，该研究方式虽然对其药理功效的评价具有一定的指导意义，但容易掩盖真象或造成假象。目前，较好的方式为分离纯化虻虫体内的单一成分，并对其药理作用分别进行研究。对虻虫单一成分药理药效研究经历了以下两个阶段。

2.2.1 发挥药效主要药材部位的识别

Rajská et al（2007）检测了 3 种牛虻 *Hybomitra bimaculata* Macquart、*Tabanus bromius* Linnaeus 和 *Tabanus glaucopis* Meigen 的唾液腺提取物对离体灌注大鼠心脏血管的影响，发现这些提取物导致 30 s 的初始血管收缩，以及随后 2 min 的延长的冠状血管舒张现象，但牛虻其他部位无此类活性，即牛虻唾液腺含有诱导血管舒张的物质。Xu et al（2008）对姚虻（*T. yao* Macquart）身体各部分功能进行了较全面研究，发现其唾液腺具抗血栓、抑制凝血酶、抑制血小板聚集、舒张血管、水解纤维蛋白原及抗菌等功效，中肠具有抑制凝血酶、水解纤维蛋白原等功效，而其他部位包括表皮、腿、腹部及脂肪体等均无明显生物学功能，即其唾液腺为主要药效部位。吸血之前，牛虻将口器深入动物宿主皮肤，撕破组织和毛细血管形成血池，此过程中唾液腺分泌唾液注入宿主皮肤被叮咬处。唾液含有大量止血、抗炎以及免疫调控的分子，如蛋白质、前列腺素、核苷酸和多肽等，可改变宿主的生理反应，并形成适于寄生的微环境（Andrade et al，2005）。

2.2.2 凝血酶抑制剂

Tabanin 是在牛虻（*Tabanus bovinus* Linnaeus）体内发现的一种凝血酶抑制剂，相对分子质量为~7×10^3，氨基酸序列未知（Andrade et al，2006）。Xu et al（2008）从姚虻唾液腺中分离得到一个相对分子质量为 6×10^3 的抗凝血因子 Tabkunin，具有 6 个半胱氨酸和 1 个 kunitz 结构域，能抑制凝乳蛋白酶、弹性蛋白酶、凝血酶和胰酶水解其相应发色底物，且热稳定性较好，而与 Markward & Schulz（1960）从牛虻中分离得到凝血酶抑制剂 tabanin（相对分子质量为~7×10^3）相比较，由于两者具有相似的凝血酶抑制活性和相对分子质量，Tabkunin 可能是 tabanin 的异构形式。

2.2.3 纤维蛋白原水解酶

Yang et al（1998）从五带虻（*Tabanus quinquecinctus* Ricardo）匀浆液中分离纯化得到相对分子质量为 40×10^3 的纤溶酶 TQFC，从杭州虻（*Tabanus hongchowensis*）匀浆液中分离纯化得到 36.5×10^3 的纤溶酶 THFE，两者既具有纤溶酶作用，又可激活纤溶酶原（Yang et al，1999）。而从华广虻（*Tabanus amaenus* Walker）腹部组织匀浆液中分离纯化的 67×10^3 的纤溶酶 TAFP（Yang et al，2000）则仅具纤溶酶作用。此外，Yang et al（1999）还从虻虫生药中提取得到纤溶成分 TFC，其既具有纤溶酶作用，可激活纤溶酶原，同时，又可降解纤维蛋白和纤维蛋白原。

2.2.4 抗凝血蛋白酶

Xu et al（2008）从姚虻唾液腺中分离到丝氨酸蛋白酶 Tabserin，其相对分子质量为 29×10^3，前体由 248 个氨基酸组成，以剂量依赖方式抑制血液凝固，在浓度为 16 μg/mL 时，可延长贫血小板血浆（platelet-poor plasma，PPP）复钙时间 5 h，并且可能通过破坏血液凝固级联反应中的凝固因子来发挥抗凝作用。

2.2.5 抗凝血多糖

Jin & Wang（2000）采用水浸醇沉法、酶解法等手段从瘤虻（*Hybomitra erberi* Brauer）生理盐水提取物中分离纯化得到一种具抗凝血作用的粘多糖类物质，相对分子质量为 15×10^3，基本结构单位为葡萄糖。该粘多糖能显著延长小鼠凝血时间和大鼠凝血酶原时间，并对小鼠体内血栓和人全血凝块具有显著溶解作用。

2.2.6 血小板聚集抑制剂

血小板聚集是形成血栓的关键步骤，牛虻通过抑制血小板聚集而发挥其抗血栓功效。Reddy et al（2000）从斑虻（*Genus chrysops*）唾液腺匀浆物中分离得到的相对分子质量为 5×10^3 的血小板聚集抑制剂 Chrysoptin，能够抑制 ADP 诱导的血小板聚集。Xu et al（2008）从姚虻唾液腺中分离纯化得到两个血小板聚集抑制剂 tabinhibitin 1 和 2。成熟的 tabinhibitin 1 和 2 含有 10 个半胱氨酸形成 5 对二硫键，tabinhibitin 2 的 N 末端含有 Arg-Gly-Asp（RGD）

序列，tabinhibitin 1 的 N 末端含有 Arg-Gly-Cys-Asp 序列。推测 tabinhibitin 1 和 2 可占据血小板上的纤维蛋白原受体 GP IIb/IIIa，阻止血小板与含有 RGD 序列的纤维蛋白原结合，从而抑制血小板聚集。

2.2.7 血管舒张因子

血管收缩是凝血过程中的重要组成部分。一旦遭受机械性损伤、拉伸或受到炎症因子调节，血管内皮细胞将释放内皮素，导致所在部位血管收缩，从而发挥止血功能。牛虻通过其唾液腺中的血管舒张因子诱导血管舒张、抑制止血及增加血液流动性而抗血栓。Andrade et al（2006）于牛虻（*H. bimaculata* Macquart）唾液腺提取物中发现了血管舒张肽 vasotab。Xu et al（2008）从姚虻唾液腺中分离得到血管舒张肽 vasotab TY，并扩增得到其编码序列，其前体由 76 个氨基酸残基组成，包括 20 个氨基酸组成的信号肽和 56 个氨基酸组成的成熟肽。

2.2.8 免疫调节物质

Xu et al（2008）从姚虻唾液腺中分离纯化得到两个免疫抑制肽 tabimmunregulin 1 和 12。Tabimmunregulin 1 和 12 能够明显抑制小鼠脾细胞 IFN-γ 的产生而促进 IL-10 的产生。Yan et al（2008）从 *Hybomitra atriperoides* Liu（拟黑腹牛虻）唾液腺中分离纯化得到免疫调节肽 immunoregulin HA，Zhao et al（2009）从牛虻（*T. pleskei* Kröber）唾液腺中分离纯化得到 3 个免疫调节肽 immunoregulin TP1~3，这些分子均可抑制大鼠脾细胞被脂多糖 LPS 诱导所产生的细胞因子 IFN-γ 和 MCP-1 的分泌，同时促进 IL-10 的分泌。IL-10 是 T 细胞增殖和细胞因子反应的抑制型细胞因子，能够抑制促炎因子的产生。Immunoregulin HA 可能通过上调 IL-10 的产生来抑制 IFN-γ 和 MCP-1 的分泌。这种免疫抑制有助于牛虻吸血过程的完成并具抗炎效果。

2.2.9 抗感染活性物质

牛虻在对抗各种病原微生物对其自身感染的同时，需要避免将病原微生物传染给宿主，以免遭到宿主的排斥。因此，牛虻通过形成抗菌肽分子来抑制叮咬处微生物的繁殖和生长，以保护自身和宿主在吸血过程中免受微生物感染。Xu et al（2008）从姚虻唾液腺中分离纯化得到的 3 个抗菌肽，defensin TY1、cecropin TY1 和 attacin TY3，可通过不同机制来发挥抗菌作用，从多个方面保证了牛虻抵御微生物感染的有效性。

2.2.10 虻虫过敏原认知历程

前文已提到虻虫可导致严重过敏反应，暗示牛虻药材中含有过敏原，但其导致过敏反应的物质基础尚不明确。最近，从姚虻中识别到了 3 种过敏原，Tab a 2、Tab a 5 和 Tab y 1，其中，Tab y 1 为相对分子质量为~65×10^3 的 apyrase，可通过抑制 ADP 诱导的血小板聚集而发挥抗血栓功能，Tab a 2 及 Tab a 5 为蛋白酶类似物，相对分子质量分别为 25×10^3 及 30×10^3（An et al，2011; Ma et al，2011）。

3 虻虫药物利用发展史

3.1 以虻虫为主药的复方中药制剂（含有四味及以下中药药材复方）

虻虫与牡丹制成粉末后酒服，可用于治疗腕折瘀血（唐.孙思邈《千金方》）。《伤寒论》中记载虻虫、水蛭及桃仁配伍可用于治疗太阳病、脉沉结及小便不通等。虻虫与陈皮配伍可用于治疗心绞痛（Chen et al，1990）。Wu（1992）报道以牛虻和水蛭为主的中成药（消栓通胶囊剂）可用于治疗脑血栓。由虻虫、西红花、水蛭及桃仁组成的复方“西虻片”可用于治疗肝炎。熟地黄、虻虫、水蛭及桃仁制成粉末，可用于治疗月经不行（宋·陈自明《妇人大全良方》）。

3.2 含有虻虫的多味药材复方中药制剂（含有五味及以上中药药材复方）

由虻虫、土鳖虫、穿山甲、沉香及罂粟壳等药材组方的口服通脉散可用于治疗血栓闭塞性脉管炎（Zhou，1985）。虻虫、全蝎、地龙、当归及丹参组方的通脉活血汤也可用于治疗血栓闭塞性脉管炎（Fan，1980）。虻虫、水蛭、穿山甲与四妙汤（生黄芪、归尾、金银花、甘草）可用于治疗血栓性静脉炎。水蛭、虻虫、三棱、当归、桃仁及川芎等组方可用于治疗小儿急性肾炎（Li et al，1984）。水蛭、虻虫、当归、赤芍、川芎、丹皮、鸡血藤及黄芪组方的化瘀汤可用于治疗小儿腮病毒肺炎（Yan et al，1984）。五虫丸（水蛭、虻虫、地鳖虫、壁虎及蟾皮）可用于治疗肿瘤（Yang & Liu，1998）。异味粉可用于治疗子宫内膜异味（Shao et al，1980）。水蛭、虻虫、大黄、桃仁及甘草组方可用于治疗闭经。

3.3 虻虫单方中药制剂及虻虫单一成分西药

虻虫粉可用于治疗瘀血型内痔出血（Cao，1993）。虻虫的酒精提取物可用于治疗银屑病（Chi，1986）。

目前，虻虫来源的单一成分西药虽尚无临床应

用，但是，已作为抗血栓药物进行开发，包括虻虫唾液腺来源的血小板聚集抑制剂及凝血酶抑制剂等（Xu et al，2008）。

4 研发与利用

4.1 中医药经验积累为挖掘虻虫抗血栓活性成分提供线索并指导西药新药研发

中医药研究和应用表明，虻虫单味或组方药材具有确切的抗血栓作用，其功效已为几千年的历史和现代临床疗效所肯定。虻虫的中药现代化正是根据传统中医药研究和应用的长期积累和病例分析，采用生物化学、分子生物学、化学及药学等手段，挖掘其有效成分。近年来，已发掘出了一系列具有临床应用前景的生物活性分子用于抗血栓西药新药研发，如虻虫唾液腺来源的血小板聚集抑制和凝血酶抑制剂等。

4.2 现代医药学手段从分子水平上深入验证和证明虻虫作为抗血栓药材的物质基础

尽管虻虫或其组方已被证明具抗血栓功能，但由于长期以来缺乏国际认可的标准和规范，以及相应的基础研究薄弱，目前我国的复方制剂尚未能走向世界医药主流市场，难以参与国际竞争。因此，需寻找虻虫中具有抗血栓作用的单体物质，阐明其物质基础和作用机理，使其作为抗血栓药物"有根可寻、有理可说"，并从分子水平上揭示其发挥抗血栓作用的功能物质，以消除其神秘感和模糊性。目前，已经从虻虫中识别了血小板聚集抑制剂、凝血酶抑制剂、纤维蛋白原水解酶等多种抗血栓功能分子，这证明了该传统抗血栓中药的科学性（Xu et al，2008; Ma et al，2009）。

4.3 现代药学研究手段指导对虻虫毒副作用物质基础的辨识

我国的复方制剂难以为现代医学所接受、未能走向世界医药主流市场的另一个重要原因是由于中药药材含有大量的未知成分，这些成分除了掩盖了其有效作用以外，也许还含有毒副作用。虻虫的毒副作用主要在于导致过敏反应，但其物质基础（过敏原）一直未被认知。直到最近，Ma et al（2011）才识别了几种虻虫来源的过敏原，为安全有效利用虻虫中药材打下了重要基础。

参考文献：

An S, Ma D, Wei JF, Yang X, Yang HW, Yang H, Xu X, He S, Lai R. 2011. A novel allergen Tab y 1 with inhibitory activity of platelet aggregation from salivary glands of horseflies. *Allergy,* **66**(11): 1420-1427.

Andrade BB, Teixeira CR, Barral A, Barral-Netto M. 2005. Haematophagous arthropod saliva and host defense system: a tale of tear and blood. *Anais da Academia Brasileira de Ciências,* **77**(4): 665-693.

Andrade BB, Teixeira CR, Barral A, Barral-Netto M. 2006. Vasotab, a vasoactive peptide from horsefly *Hybomitra bimaculata* (Diptera, Tabanidae) salivary glands. *Journal of Experimental Biology,* **209**(2): 343-352.

Cao X. 1993. The treatment of hemorrhage of internal hemorrhoids. *Hunan Journal of Traditional Chinese Medicine,* **9**(3): 13. [曹旭. 1993. 虻虫治内痔出血. 湖南中医杂志, **9**(3): 13.]

Chen X, Zhou H, Liu YB, Wang JF, Li H, Ung CY, Han LY, Cao ZW, Chen YZ. 2006. Database of traditional Chinese medicine and its application to studies of mechanism and to prescription validation. *British Journal of Pharmacology,* **149**(8): 1092-1103.

Chi D. 1986. Mingjianfang. Beijing: Energy Press. [迟钝. 1986. 民间方. 北京: 能源出版社.]

Chen YR, Meng QD, Tong L, Xu JJ. 1990. Effect of tananus bivittatus mats water extract on bleeding time, plasma fibrinogen content and platelet aggregation in rats. *Journal of First Military Medical University,* **10**(3): 260-261. [陈育尧, 孟庆棣, 佟丽, 许俊杰. 1990. 虻虫水提物对大鼠出血时间、纤维蛋白元含量及血小板聚集性的影响. 第一军医大学学报, **10**(3): 260-261.]

Fan ZX. 1980. The Experience for the Treatment of Buerger Disease by Combining Traditional Chinese and Western Medicine. Beijing: People's Medical Publishing House. [范正祥. 1980. 中西医结合治疗血栓闭塞性脉管炎经验选编. 北京: 人民卫生出版社.]

Jin W, Wang YW. 2000. The pharmacological studies on the anticoagulated components of gadfly. *Information on Traditional Chinese Medicine,* (3): 64-66. [金伟, 王亚威. 2000. 虻虫抗凝血物质的药理研究. 中医药信息, (3): 64-66.]

Li G, Yan TY, Hou AC, Guo BS, Zhao HF, Zhou S, Li YY, Wang YJ, Huang MY, Yin GD. 1984. A study of nail-fold and tongue-tip microcirculation in children with acute glomerulonephritis and treating such cases with Huo Xue Hua Yu(活血化瘀) therapy. *Chinese Journal of Integrative Medicine,* 4(11): 669-671, 643. [李贵, 阎田玉, 候安存, 郭浜生, 赵慧芬, 周舒, 李延延, 王玉锦, 黄曼影, 尹广大. 1984. 小儿急性肾炎的微循环观察与活血化瘀治疗. 中西医结合杂志, **4**(11): 669-671, 643.]

Li JD, Huang LY, Chen M, Tang SH. 2010. Progress of studies on gadfly. *Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae,* **16**(8): 228-231. [李军德, 黄璐琦, 陈敏, 唐仕欢. 2010. 中药虻虫研究进展. 中国实验方剂学杂志, **16**(8): 228-231.]

Ma D, Li Y, Dong J, An S, Wang Y, Liu C, Yang X, Yang H, Xu X, Lin D, Lai R. 2011. Purification and characterization of two new allergens from the salivary glands of the horsefly, *Tabanus yao*. *Allergy,* **66**(1): 101-109.

Ma DY, Wang YP, Yang HL, Wu J, An S, Gao L, Xu XQ, Lai R. 2009. Anti-thrombosis repertoire of blood-feeding horsefly salivary glands. *Molecular & Cellular Proteomics,* **8**(9): 2071-2079.

Markwardt F, Schulz E. 1960. Über den Mechanismus der blutgerinnungshemmenden Wirkung des Tabanins. *Naunyn-Schmiedebergs Archiv für Experimentelle Pathologie und Pharmakologie,* **238**(2): 320-328.

Mou JY, Xu HF, Rong XL. 1996. General Entomology. Beijing: China Agriculture Press. [牟吉元, 徐洪富, 荣秀兰. 1996. 普通昆虫学. 北京: 中国农业出版社.]

Rajská P, Knezl V, Kazimírová M, Takáč P, Roller L, Vidlička L, Čiampor F, Labuda M, Weston-Davies W, Nuttall PA. 2007. Effects of horsefly (Tabanidae) salivary gland extracts on isolated perfused rat heart. *Medical and Veterinary Entomology,* **21**(4): 384-389.

Reddy VB, Kounga K, Mariano F, Lerner EA. 2000. Chrysoptin is a Potent glycoprotein IIb/IIIa fibrinogen receptor antagonist present in salivary gland extracts of the deerfly. *Journal of Biological Chemistry,* **275**(21): 15861-15867.

Shao HQ, Gao XH, Gui HQ, Cao LX, Ding MZ, Tang JF. 1980. The treatment of endometriosis uterine by activating blood circulation to dissipate blood stasis, One hundred and fifty six cases report. *Shanghai Journal of Traditional Chinese Medicine,* (3): 4-7. [邵会权, 高秀患, 归缓琪, 曹玲仙, 丁妙珍, 唐吉父. 1980. 活血祛瘀法治疗子宫内膜异位症 156 例临床分析及实验探讨. 上海中医药杂志, (3): 4-7.]

Shen PG, Wang JY. 1996. A case report of anaphylactic shock after horsefly bites. *The Chinese Journal of Dermatovenereology,* **10**(2): 123. [沈培根, 王金友. 1996. 牛虻叮咬致过敏性休克 1 例. 中国皮肤性病学杂志, **10**(2): 123.]

Jiang FW, The Group of China Medicinal Animal Fauna. 1979. China Medicinal Animal Fauna. Tianjin: Tianjin Science and Technology Press. [姜凤梧，中国药用动物志协作组. 1979. 中国药用动物志. 天津: 天津科技出版社.]

Wu WC. 1992. Xiaoshuannaomaitong capsule. *Invention Patent Bulletin,* **8**(7): 13. [吴万臣. 1992. 消栓脑脉通胶囊. 发明专利公报, **8**(7): 13.]

Xu XQ, Yang HL, Ma DY, Wu J, Wang YP, Song YZ, Wang X, Lu Y, Yang JX, Lai R. 2008. Toward an understanding of the molecular mechanism for successful blood feeding by coupling proteomics analysis with pharmacological testing of horsefly salivary glands. *Molecular & Cellular Proteomics,* **7**(3): 582-590.

Yan TY, Gong MM, Lin HC, Zhou GY, Sun BT. 1984. The mechanism of treating infant adenovirus pneumonia with A Huo Xue Hua Yu Herbal Mixture. *Chinese Journal of Integrative Medicine,* 4(3): 139-142, 130. [阎田玉, 龚明敏, 林胡春, 周光延, 孙本韬. 1984. 活血化瘀治疗小儿腺病毒性肺炎的机理探讨与电镜观察——附 93 例小儿腺病毒肺炎合并 DIC 临床疗效分析. 中西医结合杂志, **4**(3): 139-142, 130.]

Yan X, Feng H, Yu H, Yang X, Liu J, Lai R. 2008. An immunoregulatory peptide from salivary glands of the horsefly, *Hybomitra atriperoides*. *Developmental & Comparative Immunology,* **33**(10): 1242-1247.

Yang DY, Liu XL. 1998. The treatment of lung cancer patients with pleural effusion by combining eupatorium gadfly solution and chemical drug, fifty six cases report. *New Journal of Traditional Chinese Medicine,* **30**(3): 32-34. [杨丁友, 刘献琳. 1998. 泽兰虻虫汤配合化疗治疗肺癌合并胸腔积液 56 例. 新中医, **30**(3): 32-34.]

Yang XY, Lu XF, Pei Y. 1998. Purification and characterization of the fibrinolytic component of *Tabanus quinquecinctus* Ricardo. *Acta Entomologica Sinica,* **41**(3): 231-236. [杨星勇, 卢晓风, 裴炎. 1998. 五带虻溶纤活性蛋白的纯化和性质. 昆虫学报, **41**(3): 231-236.]

Yang XY, Chen XY, Pei Y, Yan GF, Zhang YF. 1999. Purification and bioactivity assay of the fibrinolytic protein of *Tabanus amaenus* Walker. *Chinese Journal of Biochemistry and Molecular Biology,* **15**(4): 580-585. [杨星勇, 程惊秋, 裴炎, 阎光凡, 张玉方. 1999. 华广虻(*Tabanus amaenus* Walker)溶纤活性蛋白的纯化及生物活性分析. 中国生物化学与分子生物学报, **15**(4): 580-585.]

Yang XY, Lu XF, Cheng JQ, Pei Y, Yan GF, Zhang YF. 2000. Purification and bioactivity assay of the fibrinolytic enzyme from *Tabanus hongchowensis*. *Acta Zoologica Sinica,* **46**(2): 160-167. [杨星勇, 卢晓风, 程惊秋, 裴炎, 阎光凡, 张玉方. 2000. 杭州虻纤溶酶的纯化及其生物活性分析. 动物学报, **46**(2): 160-167.]

Zhang XH, Zhang Q, Wang P. 2010. How to distinguish leech, tabanus and woodlouse's clinical application. *Journal of Traditional Chinese Medicine,* **51**(1): 36. [张学华, 张群, 王蓓. 2010. 水蛭、虻虫、土鳖虫临床如何区别应用. 中医杂志, **51**(1): 36.]

Zhao RL, Yu XD, Yu HN, Han WY, Zhai L, Han JY, Liu JZ. 2009. Immunoregulatory peptides from salivary glands of the horsefly, *Tabanus pleskei*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology,* **154**(1): 1-5.

Zhou YP. 1985. The observation of blood rheology of Buerger disease after treatment with Tongmaisan. *Chinese Journal of Integrative Medicine,* **5**(8): 465. [周玉萍. 1985. 通脉散治疗血栓闭塞性脉管炎血液流变学观察. 中西医结合杂志, **5**(8): 465.]

Zhou ZH. 1983. Traditional Chinese Medicine Yearbook. Beijing: People's Medical Publishing House. [周智恒. 1983. 中医年鉴. 北京: 人民卫生出版社.]

动 物 学 研 究 2013，Dec. 34(6): 700−701 CN 53-1040/Q ISSN 0254-5853
Zoological Research DOI:10.11813/j.issn.0254-5853.2013.4.0700

白腹黑啄木鸟（*Dryocopus javensis*）在内蒙古暨福建的近期记录

何芬奇[1]，郭玉民[2]，任永奇[3]，江航东[4]，叶振伟[4]

1. 中国科学院动物研究所，北京 100101
2. 北京林业大学 自然保护区学院, 北京 100086
3. 鄂尔多斯遗鸥国家级自然保护区, 内蒙古 东胜 017000
4. 厦门观鸟会, 福建 厦门 361000

中图分类号：Q959.7 文献标志码：A 文章编号：0254-5853-(2013)06-0700-02

Recent records of the White–bellied Woodpecker (*Dryocopus javensis*) in Fujian and in W Inner Mongolia of China

Fen-Qi HE[1]，Yu-Min GUO[2]，Yong-Qi REN[3]，Hang-Dong JIANG[4]，Zhen-Wei YE[4]

1. *Institute of Zoology*, *Chinese Academy of Sciences*, *Beijing* 100101
2. *Nature Reserve College of Beijing Forestry University*, *Beijing* 100086
3. *The Ordos Relict Gull National Nature Reserve*, *Dongsheng Inner Mongolia* 017000
4. *Xiamen Bird–watching Society*, *Xiamen Fujian* 361000

2013 年 10 月 2 日上午 7 时, 于内蒙古鄂尔多斯市东胜区泊江海子镇(原)泊江海子国营治沙站背后林地间, 见一只白腹黑啄木鸟（*Dryocopus javensis*）立于杨树梢上。该鸟当时正面示人, 其头、颈、及上胸全黑, 腹部纯白, 尾相对较长而形尖, 由于距离较远（超过 150 m）, 隐约似可见其尾羽具 V 字形纹理, 如是, 当为尾羽端部具白色或辉闪色羽缘。该鸟甚为机警, 远远见人即行飞去。

查以往文献, 我国学者曾在云南勐海、澜沧、鲁甸和四川盐源有过标本采集记录，故多称该种在我国见于云南南部、西北部并四川西南部（Cheng, 1955, 1976, 1987; Yang, 1995; MacKinnon et al，2000; Tan & Guan, 2003; Zheng, 2005, 2011）。然而,Tang et al（1996）曾报道该种见于福建, 但未指明具体地点。2009 年 10 月 5 日, 厦门观鸟会江航东、叶振伟、董国泰于福建中西部将乐县陇西山海拔~500 m 处见到一只白腹黑啄木鸟, 并摄有照片。

白腹黑啄木鸟近期在福建与此番在内蒙古西部的发现, 其意义在于可将其在我国境内的分布范围由我国西南扩展至东南与中北部，勾勒出其分布成为一个近乎正三角形的广阔区域, 若连其至朝鲜半岛的分布（Lee et al, 2000), 则可生成一个更为广域的平行四边形。

鉴于白腹黑啄木鸟为国家II级重点保护野生动物, 当对该种给予更多关注。

参考文献：

Cheng TH. 1955. A Distributional List of Chinese Birds. I. Non-Passeriformes. Beijing: Science Press, 229. [郑作新. 1955. 中国鸟类分布目录. I. 非雀形目. 北京：科学出版社, 229.]

Cheng TH. 1976. Distributional List of Chinese Birds. Revised ed. Beijing: Science Press, 366. [郑作新. 1976. 中国鸟类分布名录. 2 版. 北京：科学出版社, 366.]

Cheng TH. 1987. A Synopsis of the Avifauna of China. Beijing: Science Press, 393. [郑作新. 1987. 中国鸟类区系纲要. 北京：科学出版社, 393.]

Lee WS, Koo TH, Park JY. 2000. A Field Guide to the Birds of Korea. Tokyo: Toyokan Pub. Co. Ltd., 200-201.

收稿日期：2013-11-04；接受日期：2013-11-21

MacKinnon J, Philips K, He FQ. 2000. A Field Guide to the Birds of China. Changsha: Hunan Education Press, 66. [约翰•马敬能, 卡伦•菲利普斯, 何芬奇. 2000. 中国鸟类野外手册. 长沙: 湖南教育出版社, 66.]

Tan YK, Guan GX. 2003. Fauna Sinica. Aves, Vol. 7. Beijing: Science Press, 180-182. [谭耀匡, 关贯勋. 2003. 中国动物志. 鸟纲, 第七卷. 夜鹰目、雨燕目、咬鹃目、佛法僧目、鴷形目. 北京: 科学出版社, 180-182.]

Tang ZH, Chen YL, Tang RG. 1996. A study on the avifauna of Fujian Province. *Journal of Fujian Teachers University: Natural Science,* **12**(2): 77-87. [唐兆和, 陈友铃, 唐瑞干. 1996. 福建省鸟类区系研究. 福建师范大学学报: 自然科学版, **12**(2): 77-87.]

Yan L. 1995. The Avifauna of Yunnan China. Vol. I: Non-Passeriformes. Kunming: Yunnan Science & Technology Press, 612-614. [杨岚. 1995. 云南鸟类志. 上卷•非雀形目. 昆明: 云南科技出版社, 612-614.]

Zheng GM. 2005. A Checklist on the Classification and Distribution of the Birds of China. Beijing: Science Press, 148. [郑光美. 2005. 中国鸟类分类与分布名录. 北京: 科学出版社, 148.]

Zheng GM. 2011. A Checklist on the Classification and Distribution of the Birds in China. 2nd ed. Beijing: Science Press, 153-154. [郑光美. 2011. 中国鸟类分类与分布名录. 2 版. 北京: 科学出版社, 153-154.]

～～～

《动物学研究》继续接收中文稿件的启事

本刊尊敬的新老读者和作者:

《动物学研究》是昆明动物研究所和中国动物学会共同主办的国内外公开发行的动物学类学报级双月刊。在两家主办单位的共同领导下，本刊的国际影响力不断提升，已被许多国际知名数据库所收录（如 2010 年被 PubMed/Medline 收录）。如您所知，本刊原出版语言为汉语、英语混合或前后分别编排。为进一步扩大传播和影响力，突破其语言障碍，我们拟在申报备案的过程中，2014 年把出版语言改为全英文，刊名先继续保持原英文刊名《Zoological Research》。现就有关稿件和费用情况说明如下，敬请知晓。

全英文的关键是解决英文稿源问题。本刊除了诚邀国内外作者直接赐予英文稿件外，准备继续接收中文稿件。对审理通过的高质量中文稿件，则提请作者考虑选择：第一，由作者自行改写成英文；第二，由本刊编辑部组织中译英翻译和编辑润色。本刊不收取英文稿件的版面费，但酌情收取英文润色费；对编辑部组织中译英的稿件，除了收取润色费外，还酌情收取一定的翻译费。

真诚感谢您对本刊变更全英文的理解！期待着您一如继往的大力支持！

《动物学研究》编辑部

2013年12月8日

Zoological Research
动物学研究





Same Journal, New Audience. Calling for English-Language Submissions

Starting in 2014, *Zoological Research* will be publishing scientific articles exclusively in English. While we are proud to have hosted so many contributions to Chinese science since we first began publishing in 1980, we believe that moving to an exclusively English-language journal will help spread your research to a truly global audience. We hope that this new change will bring together the best features of a new, high-growth journal with those a time-tested and respected academic periodical.

Given our strong track record—in 2012 *Zoological Research* was ranked 8 out of 175 Excellent International Impact Academic Journals in Science/Technology/Medicine—we are confident that your English-language submissions will be well received both in China and abroad. We are especially interested in papers focusing on our key areas: **Molecular and Cell Biology, DNA Barcoding, Developmental Biology**, **Physiology**, **Biochemistry**, **Immunology**, **Pathology**, **Neuroscience**, **Genetics**, the **Animal Ecology and Ethology,** and especially **Animal Models of Human Diseases**.

To help smooth the transition into English, we are happy to announce that an in-house American editor at the Kunming Institute of Zoology will be editing all submissions selected for publications, ensuring that your research and ideas come across clearly to an international audience. Our journal also offers a smooth publication cycle with open-access where PDFs of accepted articles immediately e-published ahead of printed versions.

Sponsored by the Kunming Institute of Zoology (CAS) and the China Zoological Society, *Zoological Research* has continually been reported by many influential national and international indexes including, but not limited to: PubMed/MEDLINE, Ulrich's International Periodicals Directory, Biological Abstracts, Zoological Records, Chemical Abstracts, Abstract of Entomology, Рж(AJ), Bioline International, ProQuest, Centre for Agriculture and Bioscience International (CABI), JST (Japan Science & Technology Agency, JST's Bibliographic Databases), Chinese Biology Abstracts, Chinese Science Citation Database. Moreover, the journal has been exchanged globally with other publications from 75 institutions in 23 countries, giving an international audience to our authors' research. *Zoological Research* boasts an excellent editorial board with members from nationally and internationally renowned institutions including the CAS, University of Hong Kong, National University of Singapore, University of Florida, USA, University Jean Monnet & L'Institut Universitaire de France, University Basel, Switzerland, among others.

If you are interested in a new venue that will support your research efforts and help you connect to a broader audience, consider contacting one of our editors. We appreciate your support!

Address: Editorial Office of *Zoological Research,* Kunming Institute of Zoology, 32 Jiaochang Donglu, Kunming, Yunnan 650223 China
E-mail: zoores@mail.kiz.ac.cn | **Tel:** +86 871 65199026 | **Fax:** +86 871 65113532 | **Web**: http://www.zoores.ac.cn


















MacKinnon J, Philips K, He FQ. 2000. A Field Guide to the Birds of China. Changsha: Hunan Education Press, 66. [约翰•马敬能, 卡伦•菲利普斯, 何芬奇. 2000. 中国鸟类野外手册. 长沙: 湖南教育出版社, 66.]

Tan YK, Guan GX. 2003. Fauna Sinica. Aves, Vol. 7. Beijing: Science Press, 180-182. [谭耀匡, 关贯勋. 2003. 中国动物志. 鸟纲, 第七卷. 夜鹰目、雨燕目、咬鹃目、佛法僧目、鴷形目. 北京: 科学出版社, 180-182.]

Tang ZH, Chen YL, Tang RG. 1996. A study on the avifauna of Fujian Province. *Journal of Fujian Teachers University: Natural Science,* **12**(2): 77-87. [唐兆和, 陈友铃, 唐瑞干. 1996. 福建省鸟类区系研究. 福建师范大学学报: 自然科学版, **12**(2): 77-87.]

Yan L. 1995. The Avifauna of Yunnan China. Vol. I: Non-Passeriformes. Kunming: Yunnan Science & Technology Press, 612-614. [杨岚. 1995. 云南鸟类志. 上卷•非雀形目. 昆明: 云南科技出版社, 612-614.]

Zheng GM. 2005. A Checklist on the Classification and Distribution of the Birds of China. Beijing: Science Press, 148. [郑光美. 2005. 中国鸟类分类与分布名录. 北京: 科学出版社, 148.]

Zheng GM. 2011. A Checklist on the Classification and Distribution of the Birds in China. 2nd ed. Beijing: Science Press, 153-154. [郑光美. 2011. 中国鸟类分类与分布名录. 2 版. 北京: 科学出版社, 153-154.]

~ ~

《动物学研究》继续接收中文稿件的启事

本刊尊敬的新老读者和作者:

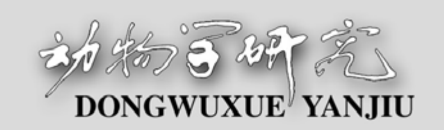
《动物学研究》是昆明动物研究所和中国动物学会共同主办的国内外公开发行的动物学类学报级双月刊。在两家主办单位的共同领导下，本刊的国际影响力不断提升，已被许多国际知名数据库所收录（如 2010 年被 PubMed/Medline 收录）。如您所知，本刊原出版语言为汉语、英语混合或前后分别编排。为进一步扩大传播和影响力，突破其语言障碍，我们拟在申报备案的过程中，2014 年把出版语言改为全英文，刊名先继续保持原英文刊名《Zoological Research》。现就有关稿件和费用情况说明如下，敬请知晓。

全英文的关键是解决英文稿源问题。本刊除了诚邀国内外作者直接赐予英文稿件外，准备继续接收中文稿件。对审理通过的高质量中文稿件，则提请作者考虑选择：第一，由作者自行改写成英文；第二，由本刊编辑部组织中译英翻译和编辑润色。本刊不收取英文稿件的版面费，但酌情收取英文润色费；对编辑部组织中译英的稿件，除了收取润色费外，还酌情收取一定的翻译费。

真诚感谢您对本刊变更全英文的理解！期待着您一如继往的大力支持!

《动物学研究》编辑部

2013年12月8日



DONGWUXUE YANJIU

双月刊(双月8日出版)，1980年创刊
第34卷第6期，Vol.34 No.6

ZOOLOGICAL RESEARCH

编　　辑　《动物学研究》编辑部
[650223　昆明市教场东路32号　中国科学院昆明动物研究所　电　话：(0871)65199026
传　真：(0871)65113532　zoores@mail.kiz.ac.cn]
主　　编　姚永刚
主 办 单 位　中国科学院昆明动物研究所 中国动物学会©
主 管 单 位　中国科学院
出 版 单 位　科 学 出 版 社(北京东黄城根北街16号　邮编100717)
印 刷 装 订　昆明小松制版印刷有限公司(昆明市北京路402号建设大厦15楼　邮编650031)
国内总发行　云南省邮政公司报刊发行局（昆明市吴井路139号　邮编650011）
订　购　处　全国各地邮政局
国外总发行　中国国际图书贸易总公司（中国国际书店）(北京399信箱　邮编100044)
广告经营许可证：滇工商广字66号

国内外公开发行　刊号：ISSN 0254-5853 / CN 53-1040/Q

国内邮发代号：64-20　国外发行代号：BM358
定价：¥40.00　Post No：BM358